

Aus der I. Medizin. Klinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
und
den Städtischen Kliniken Darmstadt

**„Untersuchungen über die Zuverlässigkeit eines
Schnellverfahrens zur Bestimmung einer
Gentamycin-Konzentration im Vergleich zum
herkömmlichen Verfahren“**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Siegfried Reinl
aus Nassengrub/Asch

Mainz 1975

Aus der I. Medizin. Klinik
der Johannes Gutenberg Universität Mainz

und
den Städtischen Kliniken Darmstadt

" Untersuchungen über die Zuverlässigkeit eines
Schnellverfahrens zur Bestimmung einer
Gentamycin-Konzentration im Vergleich zum
herkömmlichen Verfahren".

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Siegfried Reintl
aus Nassengrub/Asch

Mainz 1975

Fachbereichsdekan: Prof. Dr. med. E. Straub

Referent: Prof. Dr. med. D. Höffler

Korreferent: Prof. Dr. med. H.P. Wolff



"Untersuchungen über die Zuverlässigkeit eines Schnellverfahrens zur Bestimmung einer Gentamycin-Konzentration im Vergleich zum herkömmlichen Verfahren".

Inhaltsverzeichnis

Seite

1. <u>Einleitung</u>	5
Anliegen der Arbeit: Vergleich zweier Methoden zur Konzbestimmung von Gentamycin i.S.. Die Notwendigkeit für einen Schnelltest in der Klinik: schnelle Gewinnung des aktuellen Gentamycin-Serumspiegels bei Patienten mit akutem Nierenversagen.	
2. <u>Material und Methode</u>	6
2.1. Gentamycin: Charakterisierung, Wirkungsbereich, Nebenwirkungen (Toxizität)	6
2.2. Untersuchungsprobanden	9
2.3. Versuchsablauf	11
2.3.1. Bestimmung der Cr-51-EDTA-Clearance	11
2.3.2. Der Versuchsablauf der Gentamycin-Bestimmung	15
2.4. Durchführung der Gentamycin-Konzbestimmung	17
2.4.1. Plattenlochtest (PLT)	17
2.4.2. Schnelltest (ST)	26
2.5. Auswertung des PLT und ST (graphisch)	31
2.6. Auswertung mit dem Computerprogramm	39

	<u>Seite</u>
3. <u>Ergebnisse</u>	46
3.1. Vergleich in der technischen Durchführung	46
a) Labormaterial	46
b) Zeitbedarf	47
c) Fehlermöglichkeiten beim Arbeiten	48
3.2. Tab. der gewonnenen Gesamtdaten	51
3.3. Vergleich der Absolutwerte beider Methoden	55
3.4. Die Straffheit des Zusammenhangs beider Methoden, dargestellt durch Korrelationsdiagramme	59
3.5. Präzision als Gütemaß	63
3.6. Graphische Darstellung des pharmakokinetischen Verhaltens beim PLT. Darstellung des 1. und 3. Abfalls bei allen 20 Fällen	55
4. Diskussion	73

"Untersuchungen über die Zuverlässigkeit eines Schnellverfahrens zur Bestimmung einer Gentamycin-Konzentration im Vergleich zum herkömmlichen Verfahren".

1. Einleitung

Zur Bestimmung einer Serum-Gentamycin-Konzentration liegen zwei Methoden vor, die bisher nicht miteinander verglichen wurden: der Plattenlochtest, und der von Wahlig und Hameister (20) entwickelte Schnelltest. Obwohl beide Methoden nach dem Prinzip des Agar-Diffusionstestes arbeiten, unterscheiden sie sich doch in einer Reihe von Punkten voneinander. Die Frage nach der Zuverlässigkeit des Schnelltestes ist das Anliegen dieser Arbeit.

Worin besteht nun die Notwendigkeit, in der Klinik einen Schnelltest einzuführen? Gentamycin ist ein Antibiotikum mit einem sehr breiten Wirkungsspektrum, jedoch mit gefährlichen Nebenwirkungen auf den N. statoacusticus, wenn Konzentrationen von ca. 10 mcg/ml überschritten werden. Da Gentamycin hauptsächlich renal eliminiert wird, andererseits aber viele Krankheiten mit Indikation für Gentamycin wie z.B. Pyelonephritis mit einer verminderten Nierenleistung einhergehen, ist es wichtig, den Serum-Gentamycin-Spiegel nicht über bestimmte Konzentrationen ansteigen zu lassen, andererseits aber nicht unter der minimalen Hemmkonzentration (HK) zu bleiben, was eine wirksame Therapie zunichte machen würde.

Es ist daher von großer Bedeutung, bei Patienten, die unter Gentamycin-Therapie stehen und die plötz-

lich an einem akuten Nierenversagen erkranken (12, 15), eine möglichst rasche Information über die augenblicklich vorhandene Gentamycin-Serum-Konzentration zu erhalten, um die weitere Dosierung dem zuletzt gemessenen Wert anzupassen, d.h. eine der jeweiligen Nierenleistung angepaßte Gentamycin-Dosierung individuell zu verabfolgen (konzentrationsadjustierte Antibiotikatherapie).

2. Material und Methode

2.1. Gentamycin

Die zu untersuchende Substanz stand uns als Refobacin^R in Ampullen zu je 40mg Gentamycin-Base, Chargen-Nr. G 4638 zur Verfügung. Gentamycin (22) (3) (13) ist ein basischer Antibiotikakomplex, der 1963 aus dem Kulturfiltrat von Mikromonospora-Arten isoliert worden ist. Gentamycin gehört zu den Aminoglycosiden, d.h. zur Gruppe Streptomycin, Neomycin, Kanamycin und Paromomycin. Zu diesen Substanzen hat es eine enge chemische Verwandtschaft. Gentamycin hat als Breitbandantibiotikum ein großes Wirkungsspektrum. Tab. 1 zeigt die gegen Gentamycin sensiblen Keime:

Tab. 1 (nach Wahlig) (21)

<u>Gram positive Keime:</u>	<u>MHK (mcg/ml)</u>
Bac. subtilis ATCC 6633	0,15
Bac. cereus M	0,15
Staphylococcus aureus ATCC 6538P	0,15
" " Umbrian	0,15
" " S	0,18

Staphylococcus aureus Smith	0,25
" " Pen.res.	0,3
Sare. lut. ATCC 9341	0,25
" " M	0,3
Strept. pyog. 325	0,15
" " 3 A	0,3
" " 54637	2,5
" " DA 21	6,0
" faec. 54791	5,0
" " 61592	10,0
" " ATCC 10541	12,0

Gram negative Keime:

MHK (mcg/ml)

Aerobacter aerogenes M	0,3
" " DA 90	0,75
Alcaligenes faecalis ATCC 8750	0,75
" " M	1,25
Brucella abortus ATCC 1119	0,08
" mel. Erb.	0,08
Esch. coli (Dyspepsie)	0,3
" " 942	1,25
" " DA 110	1,25
" " ATCC 10586	1,50
Klebsiella pneumoniae M	0,15
" " DA 20	0,18
" " 10031	0,6
Proteus mirabilis ATCC 9921	2,5
" vulg. 54658	2,5
" " VIII	2,5
" " 58086	5,0
Pseudomonas aerug. ATCC 10197	0,1
" " IM	0,15
" " ATCC 10145	0,25

Pseudomonas aerug. ATCC 9027	0,3
" " 57923	0,6
Salmonella typh. S 22 M	1,25
" typhimur. S	2,5
" " ATCC 9187	3,0
Shig. dysent. R 9 M	0,15

Die minimale Hemmkonzentration schwankt dabei zwischen 0,1 mcg/ml bei Pseudomonas aeruginosa ATCC 10197 und 12 mcg/ml bei Streptokokkus faecalis ATCC 10541 (3) (21).

Das Wirkungsoptimum von Gentamycin liegt im schwach alkalischen Bereich bei pH 7,8. Ein pH von 6,6 z.B. erfordert bereits eine 2-4 fach höhere Wirkstoffkonzentration (22). Bezüglich der Pharmakokinetik und Bakteriologie des Gentamycin kann auf Höffler (3) (5), Hepding (2), Wahlig (2) (21), Weinstein (23), Jackson (7) (9) und Jao (9) hingewiesen werden.

Nebenwirkungen von Gentamycin:

Gentamycin hat bei hohen Serum-Konzentrationen toxische NW auf den N. statoakusticus. Es treten zuerst Vestibularis-Störungen wie Schwindel, Nystagmus, Menière-Syndrom und Ataxie auf. Die Ausfälle der Vestibularis-Funktionen sind bei raschem Absetzen des Gentamycins meist reversibel. Erst bei Fortsetzung der Medikation können ototoxische Schädigungen auftreten, die irreversibel sind (8) (10) (18). Die Höhe des Gentamycin-Serumspiegels, die notwendig ist, um ototoxische NW zu verursachen, liegt im Bereich um 10 mcg/ml. Tab. 2 zeigt die von einzelnen Autoren ermittelten Werte:

Tab. 2

Vestibulo- und ototoxische Serum-Spiegel

(nach Höffler) (3)

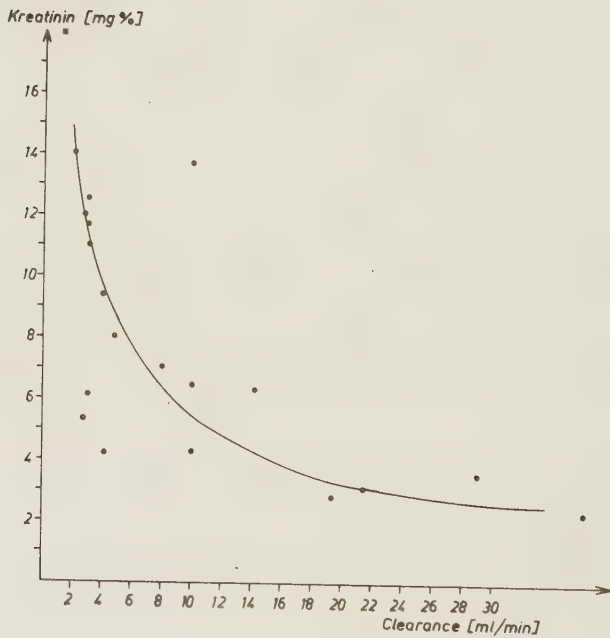
von Gentamycin

<u>Autor</u>	<u>Spiegelhöhe</u>	
Jackson	12	mcg/ml
Pines	10	"
Jao et al.	3,2-12,5	"
Sweedler et al.	13	"
Höffler	6,8	"

2. 2 Patienten

Die Untersuchungen wurden an 20 Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion durchgeführt. Als Maß für die Nierenleistung galt dabei das Glomerulumfiltrat (GF). Da bei seiner Verminderung das Plasma-Kreatinin ansteigt, kann auch dieser Wert als Maß für die Nierenfunktion verwendet werden. Bei den Messungen des Kreatininwertes und der GF-Bestimmung ergab sich die bereits länger bekannte Beziehung beider Größen durch eine Potenzfunktion (4), wie sie in Abb. 1 dargestellt ist.

Abb. 1 : Abhängigkeit des Plasma-Kreatininwertes
vom Glomerulumfiltrat bei den 20 unter-
suchten Personen.



2. 3. Versuchsablauf

Bei der Versuchsdurchführung wurden 2 Untersuchungen parallel durchgeführt:

- a) die Cr-51-EDTA-Clearance (1)
- b) der Gentamycin-Versuchsablauf

2.3.1. Bestimmung der Cr-51-EDTA-Clearance

Um die am Versuchstag vorhandene Nierenleistung festzustellen, war es notwendig, gleichzeitig mit der Gentamycin-Spiegelbestimmung eine Kreatinin- und eine EDTA-Clearance-Untersuchung zu machen. Wie bereits ausgeführt, besteht eine enge Beziehung zwischen Kreatinin und Clearance. Zur Kreatinin-Bestimmung, die als einfache Untersuchung in jedem Labor durchgeführt werden kann, erfolgte vor Versuchsbeginn eine Abnahme von 10 ml Leerblut. An Leerblut wurden ferner 10 ml für die Cr-51-EDTA-Clearance und 20 ml für die Gentamycin-Bestimmung abgenommen.

Zunächst soll dargestellt werden, warum nicht die allgemein übliche Standardmethode, die Inulin-Clearance, als Maß für die Nierenleistung durchgeführt wurde. Die Inulin-Clearance erfordert einmal einen verhältnismäßig großen apparativen Aufwand und ist zudem wegen der erforderlichen Katheterisierung mit dem Risiko der Infektion behaftet. Demgegenüber weist die Cr-51-EDTA-Clearance folgende Vorzüge auf:

- a) die Komplikationsmöglichkeit ist wegen der nicht erforderlichen Katheterisierung geringer,
- b) die technisch-apparative Durchführung ist einfacher,

- c) die glomeruläre Filtrationsrate kann mit der gleichen Exaktheit bestimmt werden.

Klinische Ausführung

In die Kubitalvene wurde mittels einer Tuberkulinspritze 1 ml einer mit radioaktivem Chrom markierten EDTA (=Äthylendiamintetraessigsäure) injiziert, anschließend wurde die in der Vene liegen gelassene Spritze 10mal mit Blut durchgespült. Die von den Farbwerken Höchst stammende und in Bleibehälter verpackte Cr-51-EDTA mußte soweit mit NaCl-Lösung verdünnt werden, daß sich in einem ml injizierter Substanz eine Konzentration von 100 Mikro-Ci. befand, eine für den Organismus harmlose Strahlenbelastung. Die radioaktive Substanz verteilte sich im Körper und unterlag der Nierenclearance. Nach 120, 150, 180 und 210 min wurden jeweils 10 ml Venenblut entnommen, in Na-Citrat enthaltende Probenfläschchen gefüllt und anschließend zentrifugiert. Von dem abzentrifugierten Plasma wurden je 2 ml in Glasröhrchen gefüllt und die Aktivitäten in einem Bohrlochszintillationszähler gemessen. Die in Impulsen gemessenen Aktivitäten wurden dann einem Computer eingegeben. Die Auswertung erfolgte durch ein einfaches Computerprogramm (1), wodurch im Gegensatz zur zeichnerischen Auswertung zusätzliche Parameter zur Qualitätskontrolle der Untersuchung gewonnen werden können.

Abb. 2 zeigt einen solchen Programmausdruck, aus dem die wesentlichen Daten hervorgehen.

Abb. 2

Programmausdruck des Computers einer Controdata 3300 zur Bestimmung der Totalclearance mit Cr-51-EDTA: In der oberen Bildhälfte sieht man die eingegebenen Daten einschließlich der gemessenen Impulse der Plasmaproben. Aus der unteren Bildhälfte sind die zu jedem Zeitpunkt der Blutentnahme errechneten Nettowerte, die Approximationswerte sowie Verteilungsvolumen, Halbwertszeit und schließlich die Totalclearance von Cr-51-EDTA, bezogen auf die Körperoberfläche, zu entnehmen.

Bestimmung der Cr-EDTA-Clearance

Tag der Untersuchung	15.3.1972
Name	Walter, Else
Geburtstag	2.4.1930
Größe	163 cm
Gewicht	69,0 kg
Tageswert	215 CM
Dosis	19863340.

Ausgangsdaten

Zeitpunkt	Impulse
120.	765.
150.	665.
180.	562.
210.	491.

Zeitpunkt	Impulse		Relativer Fehler in %
	Gemessen	Errechnet	
120.	550.000	556.402	1.15064
150.	450.000	440.823	-2.08164
180.	347.000	349.253	.64525
210.	276.000	276.704	.25474

Correlationskoeffizient	=	-0.998
Konzentration zum Zeitpunkt Null	=	1412.163
Halbwertszeit	=	89.305
	=	14065.897
in Prozent des Körpergewichtes	=	20.385
Cl _{OT}	=	109.173 ML/MIN
Cl _{OT} korrigiert auf Körperoberfläche	=	108.255 ML/MIN/1.73M ^{0.72}
Grenzwerte	=	(104.086, 112.423)
entspricht C _{inulin}	=	102.793 ML/MIN/1.73M ^{0.72}

Zur Erzielung einer verschieden hohen Gentamycin-Konzentration bei jedem Einzelpatienten erhielten die Probanden 3mal eine i.v. Injektion von je 40 mg Gentamycin (Refobacin^R) im Abstand von 4 Stunden. Vor der 1. Injektion wurde den Probanden eine Braunüle gelegt, die während der gesamten Versuchsdauer liegenblieb. Diese erwies sich als eine große Erleichterung sowohl für den Untersucher, der auf genaue Abnahmezeiten zu achten hatte, als auch für den Patienten, dem man dadurch eine allzu häufige Punktion seiner Venen (11mal) ersparen konnte.

Sodann wurden 40 ml Leerblut abgenommen, von denen 20 ml zur Serumgewinnung für die späteren Gentamycin-Spiegelbestimmungen benötigt wurden. Dann wurde nach der Stoppuhr Cr-51-EDTA injiziert. Es erfolgte bei liegengelassener Nadel die 1. Gentamycin-Injektion, wobei vorher der Inhalt einer Ampulle mit physiologischer NaCl-Lösung bis auf ein Volumen von 20 ml gebracht wurde. Bei der Vorbereitung der Spritzenfüllung wurde dabei die 1 ml enthaltende Ampulle Refobacin nach Aufziehen in die Spritze wiederholt mit frischer NaCl-Lösung gefüllt und in die gleiche Spritze aufgezogen, um sorgfältig die gesamten 40 mg Gentamycin zur Injektion zu bringen. Die Injektion erfolgte dabei am kontralateral von der Braunüle befindlichen Arm. Es folgten 4 Abnahmen von je 10 ml Blut im Abstand von je 1 Stunde. Nach 4 Stunden wurde eine 2. Injektion verabreicht, diesmal jedoch ohne folgende Blutentnahmen. Nach weiteren 4 Stunden wurde eine 3. Injektion vorgenommen, worauf wieder 4 Abnahmen im stündlichen Abstand erfolgten. Zur Einhaltung einheitlicher Versuchsbedingungen befanden sich die Probanden während der gesamten Untersuchungszeit in horizontaler Ruhelage.

Das Patientenblut wurde zur Vermeidung der Gerinnung mit einem Tropfen Heparin versetzt und in der Zentrifuge bei 3000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Das gewonnene Serum wurde in Testplatten, bestehend aus jeweils 60 Plastikteströhrchen zu je 2 ml Inhalt, abgefüllt und anschließend tiefgefroren, um einen eventuellen Spontanabfall des Antibiotikumspiegels zu verhindern.

2.4. Durchführung der Gentamycin-Konzentrationsbestimmung

2.4.1. Lochtest

2.4.2. Schnelltest

2.4.1. Lochtest

Der Plattenlochtest (Abk.: PLT) ist ein bewährtes Verfahren, die Konzentration eines Antibiotikums in einer Flüssigkeit zu ermitteln. Auf nähere Einzelheiten und die theoretischen Grundlagen des PLT kann hier nicht eingegangen werden. Hierzu sei auf die Literatur verwiesen (11) (17). Es soll jedoch kurz das Prinzip des Verfahrens dargelegt werden, welches auch für den später zu besprechenden Schnelltest (Ak.: St) Gültigkeit hat. Das Prinzip besteht darin, daß man auf eine mit Testkeimen besäte Agarplatte die antibiotikahaltige Prüflösung (hier: Serum) aufbringt und zwar entweder in ausgestanzte Agarlöcher oder mittels auf die Agarschicht gelegte und mit Testlösung getränkte Filtrierpapierplättchen mit anschließender Bebrütung der Platten. Aus der durch das Antibiotikum auf der Agarplatte erzeugten Hemmhofgröße kann die Antibiotikakonzentra-

tion der Testlösung anhand einer Standardkurve abgelesen werden. Die Standardkurve erhält man, indem man eine Verdünnungsreihe einer bekannten Konzentration des zu prüfenden Antibiotikums herstellt und die zu jeder Konzentration ermittelte Hemmhofgröße auf halblogarithmischem Papier aufträgt.

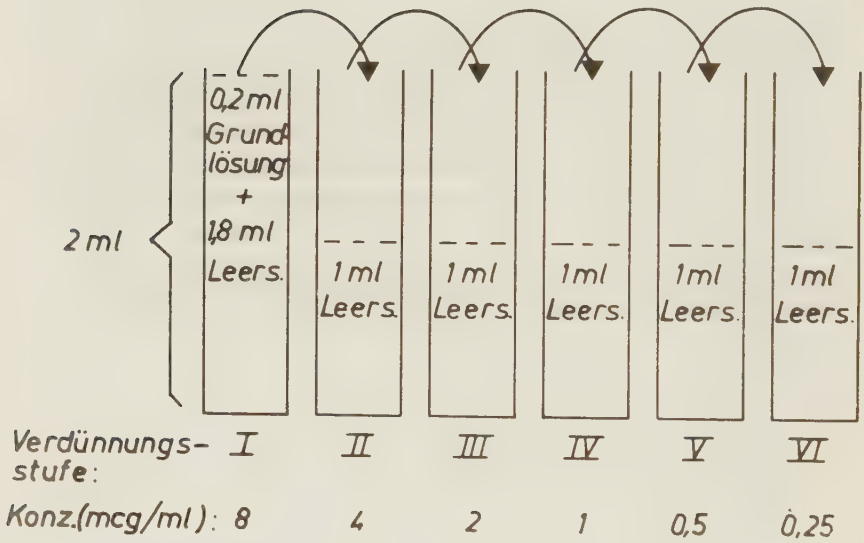
Die Größe der Hemmhöfe hängt dabei von folgenden Faktoren ab:

- 1) Von der absoluten Menge der antibiotikahaltigen Testflüssigkeit, die in das Agarloch gegeben wird. Je mehr Flüssigkeit, desto größere Hemmhöfe.
- 2) Von der Antibiotika-Konzentration in der zugegebenen Testflüssigkeit: je höher die Konzentration, desto größere Hemmhöfe.
- 3) Von der Agarschichtdicke. Bei gleicher Konzentration und Flüssigkeitsmenge entstehen umso größere Höfe, je dünner die Agarschicht ist und umgekehrt.
- 4) Von der Dichte der Einsaat. Je größer die zugegebene Keimmenge, umso schneller erfolgt die Rasenbildung und umso kleiner werden folglich die Hemmhöfe.

Bei der Herstellung der Standard-Verdünnungsreihe galt es zunächst die ungefähre Größenordnung der zu erwartenden Konzentrationen der Testseren abzuschätzen, damit der Konzentrationsbereich der Standardseren in der gleichen Größenordnung zu liegen kam wie derjenige der Testseren. Aus der Literatur war zu ersehen, daß man mit einem Konzentrationsbereich von 1-10 mcg/ml rechnen konnte (3) (5). So wurde eine sechsstufige Verdünnungsreihe mit den Konzentrationen 8-4-2-1-0,5-0,25 mcg/ml hergestellt, die auch für den ST Verwendung fand. Die Ausgangs-

Konzentration von 8 mcg/ml erreichte man folgendermaßen: Eine Ampulle Refobacin (= 1 ml = 40 mg) wurde in einem Meßkolben mit aqua dest. auf ein Volumen von 500 ml Grundlösung gebracht, was einer Konzentration von 80 mcg/ml entsprach. Von dieser Grundlösung wurden ca. 50 Portionen für die gesamte Versuchsreihe in die 2 ml fassenden Plastikteströhrchen gefüllt und tiefgefroren. Für jede Standardherstellung konnte nun nach Belieben jeweils eine Portion aufgetaut werden. Da die Ausgangskonzentration der Standard-Verdünnungsreihe aber 8 mcg/ml betragen sollte, mußte die aufgetaute Grundlösung 1:10 verdünnt werden, d.h. um 1 ml Lösung mit der Konzentration von 8 mcg/ml zu erhalten, waren 0,1 ml Grundlösung mit 0,9 ml Leerserum zu verdünnen. Da nach Vorausberechnungen pro Verdünnungsstufe etwa 1 ml Serum benötigt wurden, mußte man die doppelte Menge der beiden zu mischenden Flüssigkeiten nehmen, nämlich 0,2 ml Grundlösung und 1,8 ml Leerserum. Abb. 4 zeigt ein Schema zur Herstellung der Verdünnungsreihe.

Abb. 4 Schema zur Herstellung der Standard-Verdünnungsreihe



Da die Zusammensetzung des Standards die größte Fehlerquelle unter den zahlreichen Fehlermöglichkeiten beim PLT darstellt (Einzelheiten siehe Höffler (3) S. 9 ff), mußte hier besondere Sorgfalt geübt werden. Da der PLT auf einem Vergleich beruht, muß die Standard- und die Testlösung aus der gleichen Flüssigkeit bestehen. Es ist z.B. nicht möglich, eine Serum-Testlösung an einem wäßrigen Standard zu messen, da Gentamycin im Serum auf dem Agar größere Hemmhöfe erzeugt als in Wasser. Nach eigenen Vorversuchen waren die mit Serum erzeugten Hemmhöfe um ca. 15 % größer als mit aqua dest. Obwohl der Ansatz des Standards mit Leerserum von Normalpersonen genügt, und keine außerhalb der Fehlerbreite der Methode liegenden Abweichungen bringt, wurde zur strengen Einhaltung der Versuchsbedingungen nur Leerserum der jeweiligen Probanden verwendet.

Von besonderer Wichtigkeit war dabei die Beachtung der Möglichkeit, daß das Leerserum bereits einen Antibiotika-Spiegel aufwies, was zu völlig falschen Versuchsergebnissen geführt hätte. Dies ist z.B. bei einem Probanden der Fall gewesen, der ein Antibiotikum einnahm. Dies äußerte der Patient erst auf genaues Befragen, so daß der Versuch abgebrochen werden mußte. Eine Prüfung seines Leerserums zeigte dann auch deutliche Hemmhöfe. Um Gewißheit über die Reinheit des Leerserums zu erhalten, wurden daher bei jeder Versuchsplatte 2 Zusatzlöcher mit Leerserum gefüllt und auf Hemmhofbildung geachtet.

Der Nährboden für die Platten bestand aus Merck Antibiotic-Agar Nr. 5, Art 5271, Chargen-Nr. 9061755. 2,6 g dieses Agars wurden in einem Erlenmeyerkolben mit 100 ml aqua dest. vermischt, anschließend zur Sterilisierung des Agars bei 120 Grad C 45 min autoklaviert. Danach erfolgte Abkühlung im Wasserbad auf ca. 60 Grad und Zugabe des

Testkeims. Als solcher diente *Bacillus subtilis* ATCC 6633 und zwar als Sporensuspension von Merck, Art.-Nr. 5275. Nach umfangreichen eigenen Vorversuchen wurden die besten Hemmhöfe bei 100 ml Agar und 1 ml Sporensuspension ermittelt. Der pH des Agars spielte dabei eine erhebliche Rolle. Da Gentamycin sein Wirkungsoptimum bei pH 8 besitzt, mußte der Nährboden auf diesen Wert alkalisiert werden, was mit einigen Tropfen konz. NaOH zu erreichen war. Die Messung des Agar-pH während der NaOH-Zugabe erfolgte mit Indikator-Teststreifen.

Der 60 Grad heiße Agar wurde in 15 x 27 cm große mit Aluminiumrahmen versehene Platten aus geschliffenem Kristallglas gegossen. Die Schichtdicke des Agars mußte auf der ganzen Platte gleich sein. Daher wurden die Platten vorher mittels Dreibein und Wasserwaage in eine exakt waagerechte Lage gebracht. Der Guß mußte wegen der schnellen Erstarrung des Agars zügig durchgeführt werden. Entstandene Luftblasen wurden mit dem Bunsenbrenner abgeflammt, so daß sich eine völlig glatte Oberfläche ergab. Nach dem Abkühlen (ca. 20 min) wurden mit einem scharfen kreisrunden Stahlrohr ($\varnothing$ 9 mm) Löcher in den Agar gestanzt, und zwar mittels einer untergelegten Schablone 3 Reihen zu je 6 Löchern, was Abb. 5 verdeutlicht.

Abb. 5 Anordnung der gestanzten Löcher für
Standard- und Serumproben beim PLT

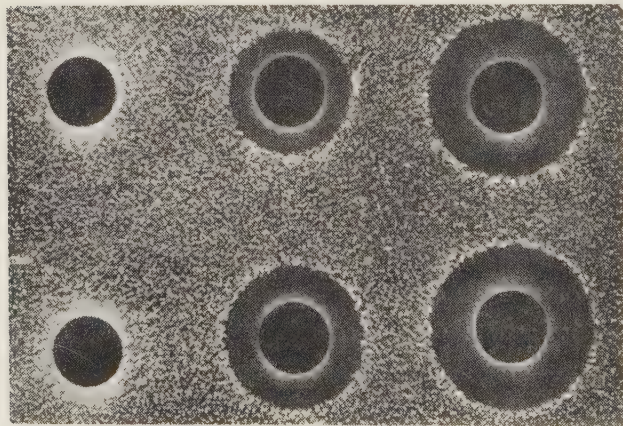
1	2	3	4		Leers. ○
IV	II	V	III	I	VI
Leers. ○		5	6	7	8

In die mittlere Lochreihe kam der Standard, wobei die Anordnung I-VI zeigt, in welche Löcher die einzelnen Konzentrationen von I bis VI gegeben wurden. Das Testserum wurde in die obere und untere Reihe gefüllt. Die Proben 1 bis 4 entsprechen den 4 Abnahmen nach der 1. Gentamycin-Injektion, die Proben 5 bis 8 den Abnahmen nach der 3. Injektion. Da alle 8 Proben auf einer Platte unterzubringen waren, konnte von den Serien 1 bis 8 nur eine Einfachbestimmung erfolgen. Die Eingabe des Standards und des Testserums in die Löcher erfolgte mit einer Dosierspritze von 0,1 ml Inhalt. Hierbei war besonders zu beachten, daß die Spritzen keine Luftblasen enthielten, da jedes Loch mit der gleichen Menge von Standard und Testserum zu füllen war. Ferner war nach jedem Arbeitsgang eine gründliche Spülung der Spritzen notwendig. Dies geschah durch je zehnmaliges Spülen der

Spritzen in 6 Glaskolben, die mit entkalktem Wasser gefüllt waren. Die Dosierspritzen wiesen eine große Genauigkeit auf. Höffler (3) hatte in Voruntersuchungen gezeigt, daß die Volumenabweichung der Spritzen weniger als 2% beträgt, ein Fehler, der vernachlässigt werden kann.

Nach dem Füllen der Löcher blieben die Platten 2 Stunden lang stehen. Während dieser sogenannten Vordiffusion von 2 Stunden hatte das Gentamycin Zeit, kreisförmig in den Agar zu diffundieren, noch bevor das Bakterienwachstum einsetzte. Auf diese Weise entstanden größere Hemmhöfe und bei der graphischen Auswertung eine flacher verlaufende Standardgerade, was zu besserern Ergebnissen führte als bei steiler verlaufenden Standardgeraden ohne Vordiffusion.

Abb. 6 Bakterienrasen und Hemmhöfe beim PLT nach einer Bebrütungszeit von 14 Stunden



Die Platten wurden anschließend im Brutschrank ca. 14 Stunden bei 37 Grad C bebrütet. Eine längere Bebrütungszeit war nicht notwendig, da nach 14 Stunden bereits ein sehr dichter Bakterienrasen mit scharfen Hemmhöfen vorhanden war (Abb. 6). Die Ablesung der Hemmhöfe erfolgte mit Hilfe eines Spezialgerätes (Abb. 7), wobei der Durchmesser der Hemmhöfe in geringem Abstand über der Agarschicht mittels eines feinen gespannten Drahtes gemessen wurde.

Abb. 7 Ablesegerät für den PLT mit Zahn und Trieb für Vertikalverschiebung (links oben) und Nonius (unten)



Bei jedem Versuch wurden gleichzeitig 2 Platten gegossen, also insgesamt 200 ml Agar auf 2 Platten verteilt. Diese Doppelmessung ist ratsam, um bei einer etwaig mißratenen Platte die Ergebnisse der anderen Platte verwenden zu können.

2.4.2. Schnelltest (Abk.: ST)

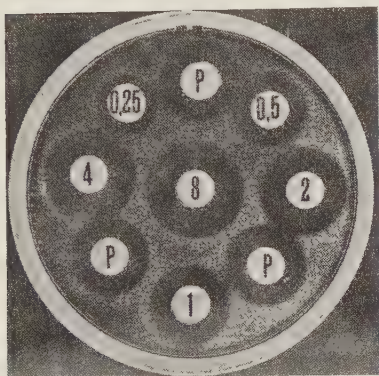
Ein Vergleich zwischen PLT und ST konnte nur sinnvoll sein, wenn beide gleichen Bedingungen unterlagen. Beide Methoden waren daher zur gleichen Zeit durchzuführen unter Verwendung des gleichen Standards und derselben Serumproben.

Als Testkeim diente *Bacillus stearothermophilus* (20), und zwar als in Glasampullen verpackte lyophilisierte Sporen der Fa. Merck. Der Inhalt einer Ampulle wurde mit aqua dest. herausgespült und zu 100 ml heißem Agar gegeben.

Der Agar bestand wie beim PLT aus Merck-Antibiotic-Agar Nr. 5, Art. Nr. 5271, jedoch mit der Chargen-Nr. 9011937. Hierbei ist zu beachten, daß mit dem Agar Nr. 5, Art. Nr. 5271 und der Chargen-Nr. 9061755, der die gleichen Nährbestandteile enthielt wie Chargen-Nr. 9011937 keinerlei Keimwachstum des *Bacillus stearothermophilus* stattfand. Die Ursache ist letztlich nicht geklärt, es wird jedoch ein Fehler in der großtechnischen Agar-Zubereitung vermutet. Das Mischungsverhältnis betrug ebenfalls 2,6 g Agar/100 ml aqua dest.. Auch hier war eine ständige pH-Kontrolle mit Indikatorpapier und NaOH erforderlich. Als Testplatten dienten PVC-Petrischalen, $\varnothing$ 8,7 cm. Die Aufbringung des Standards und der Serumproben auf die Schalen wurde nach einem von Fa.

Merck eingeführten Schema durchgeführt (Abb. 8).

Abb. 8 Anordnung des Standards und der Serumproben auf der Petrischale beim ST



P = Serumproben

8,4,2 usw. =

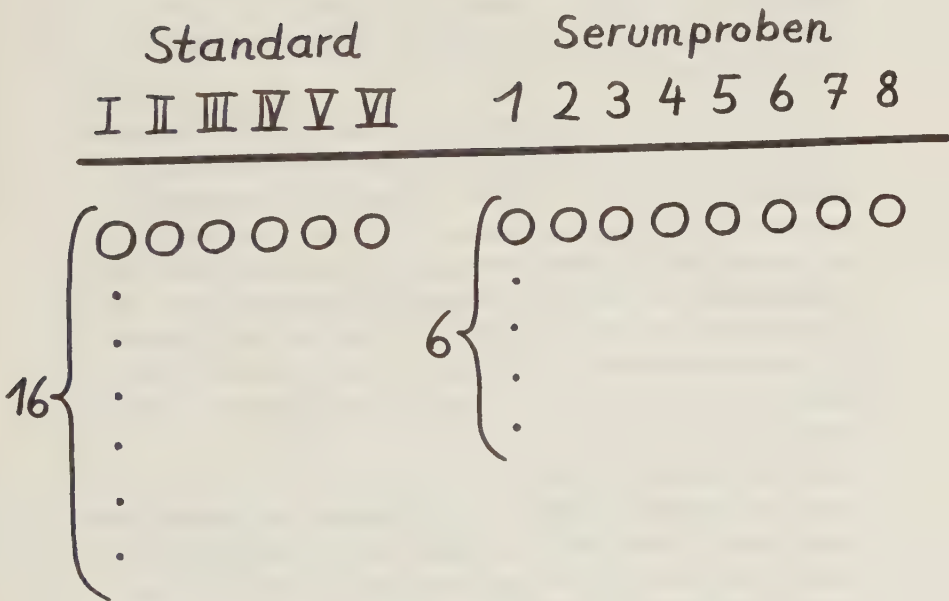
Standard (mcg/ml)

Da eine Platte ein in sich geschlossenes System darstellt, muß grundsätzlich auf jeder Platte eine komplette Standardreihe als Bezugsgröße mitlaufen. Wegen der größeren Fehlermöglichkeit, unterschiedliche Schichtdicken innerhalb einer Petrischale zu erlangen, gegenüber einer Kristallglasplatte (11), wurde auf jeder Schale eine Dreifachbestimmung einer einzigen Serumprobe durchgeführt. Bei 8 zu messenden Serumproben pro Patient wären dies 8 Schalen. Es wurden wie beim PLT jedoch je Probe 2 Schalen verwendet, was folglich je Versuch 16 Petrischalen erforderte. Die 16 Petrischalen mußten ebenfalls vollkommen waagrecht ausgerichtet werden. Dies geschah mittels dreier Dreibeine und aufgelegter Glasplatten von ca. 30 x 20 cm, die mit der Wasserwaage in exakt waagerechte Lage gebracht wurden. Die 16 Petrischalen wurden nun auf die 3 Glasplatten verteilt. Der Guß des Agars erfolgte bei ca. 70 Grad. Diese Temperatur war insofern optimal, da bei höherer Temperatur das PVC-Material der Schalen zu Verbiegungen hätte führen können und bei niedrigeren Temperaturen die geringe Agarmenge zu frühzeitig erstarrt wäre und so evtl. unterschiedliche Schichtdicken erzeugt hätte. Die Menge des pro Schale eingegossenen Agars betrug nach eigenen Vorversuchen 7 ml. Als Meßbecher diente hierzu ein kleiner Meßzylinder. Da bei 16 Schalen $16 \times 7 = 112$ ml Agar benötigt wurden, kam bei der Agarvorbereitung 1 Ampulle Testkeim auf ca. 115 ml Agar, was gegenüber dem von Fa. Merck vorgeschlagenen Verhältnis von 1 Ampulle Keim/100 ml Agar nur eine unbedeutende Verzögerung der Rasenbildung einbrachte.

Das Aufbringen der Seren auf den Agar erfolgte nicht mit ausgestanzten Löchern wie beim PLT, sondern mit Hilfe von runden Filtrierpapierplättchen der Fa.

Schleierner & Schüll, Kontr.-Nr. 2668, Ø 6 mm. Die Plättchen wurden zunächst auf einer sauberen Glasplatte nach einem bestimmten Schema mit einer Pinzette aufgelegt (Abb. 9).

Abb. 9 Schema der Papierplättchenanordnung auf der Glasplatte



Dann wurden die Platten mit einer Eppendorf-Pipette (20 mcl) und den entsprechenden Pipettenspitzen mit den Seren des Standards und der Proben getränkt. Mit einer Pipettenspitze wurden dabei jeweils alle 16 Plättchen eines Standardwertes bzw. alle 6 Plättchen einer Serum-Probe getränkt. Um ein Ankleben der feuchten Plättchen auf der Glasplatte zu verhindern, war ein schnelles Pipettieren notwendig. Dann wurden die getränkten Plättchen mit 2 Pinzetten nach dem in Abb. 8 gezeigten Schema auf den erstarrten Agar der Petrischalen gelegt. Die Schalen waren vorher genau zu kennzeichnen, da von jeder Serum-Probe 2 Platten angelegt wurden. Auf Platte 1 a befand sich also die Serum-Probe 1 in dreifacher Aufbringung, d.h. die Serumabnahme nach 1 Stunde nach erfolgter Injektion, auf Platte 1 b ebenfalls die Probe 1 dreimal. Die Platten 5 a und b enthielten demnach die Proben der 1. Abnahme nach der 3. Injektion.

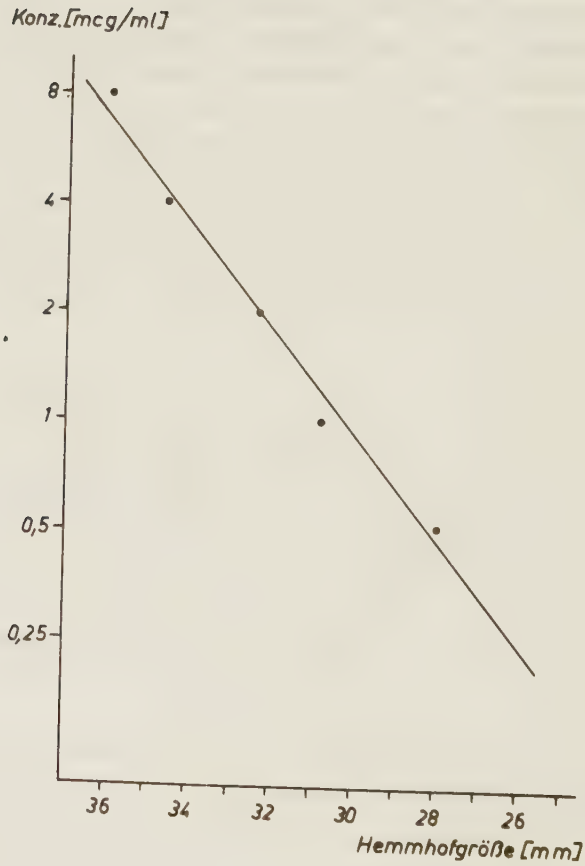
Nach dem Auflegen der Plättchen wurden die Petrischalen in 60 Grad heißem Wasserbad bei gut verschlossenem Deckel ca. 3 Stunden bebrütet, wobei die Platten auf der Wasseroberfläche schwammen. Die Wasserbadinkubation war notwendig, da wegen der dünnen Agarschicht eine hohe Luftfeuchtigkeit in den Petrischalen vonnöten war. Bei Vorversuchen zeigte sich nämlich, daß bei der gleichen Inkubationstemperatur von 60 Grad im Brutschrank der Agar Risse bekam oder zu einem dünnen Häutchen eintrocknete.

Nach der Inkubation wurden die Hemmhöfe mit einer Schublehre abgemessen, wobei die Petrischalen am besten abzulesen waren, wenn man sie gegen eine Lichtquelle (z.B. Lampe) und einen hinter der Lichtquelle befindlichen dunklen Hintergrund (schwarzes Tuch) hielt.

2.5. Auswertung des FLT und ST (graphisch)

Die Auswertung beider Testmethoden ist im Prinzip gleich. Sie besteht darin, eine Beziehung zwischen Hemmhofgröße und Gentamycin-Konzentration des Standards als Kurve aufzuzeichnen und anschließend die Maße der vom Testserum erzeugten Hemmhöfe in diese Standardkurve zu interpolieren. Bei der graphischen Darstellung ergibt sich zwischen der Konzentration des Standards und den gemessenen Hemmhofdurchmessern der Standardlösung eine logarithmische Beziehung (Abb. 10).

Abb. 10 Beziehung zwischen Konzentration und
Hemmhofdurchmesser der Standardlösung



Zur Auswertung geschieht die graphische Darstellung besser auf halblogarithmischem Papier, auf dem die y-Achse logarithmisch, die x-Achse linear unterteilt ist. Bei dieser Darstellung wird die Standardkurve zu einer Geraden. Mittels dieser Geraden kann man die Gentamycin-Konzentration des Testserums auffinden, indem die Hemmhofgrößen des Testserums auf der x-Achse aufgetragen und die auf der Standard-Kurve liegenden Konzentrationswerte auf der y-Achse abgelesen werden. Anhand der einen Standard-Kurve können auf diese Weise beim PLT alle 8 gesuchten Serumkonzentrationen abgelesen werden (Abb. 11).

In gleicher Weise wurden die Serum-Konzentrationen auf der 2. Versuchsplatte gewonnen. Von den Konzentrationswerten beider Platten wurden die Mittelwerte gewonnen. Wie Abb. 12 zeigt, können diese Werte ebenfalls auf halblogarithmischem Papier gegen die Abnahmezeiten aufgetragen werden. Es entstehen 2 Kurven, die wiederum einen logarithmischen Verlauf zeigen und in der graphischen Darstellung 2 Geraden ergeben. Sie geben den Gentamycin-Abfall i.S. nach der 1. und 3. Injektion wieder (Genaueres bei den Ergebnissen unter 3.6.).

Beim ST erfolgte die zeichnerische Auswertung in gleicher Weise. Hier war es jedoch notwendig, die Standardgerade jeder einzelnen Petrischale darzustellen, da sich für jede Schale als in sich geschlossenes System eine andere Standardgerade ergab. Mit einer einzigen Standardgeraden konnte hier nur eine Serumkonzentration bestimmt werden (Abb. 13). Von den 3 Parallelproben jeder Petrischale wurde der mittlere Hemmhofdurchmesser errechnet, z.B. in Abb. 13 bei Schale 1 a = 19,8 mm, bei Schale 1 b = 20,7 mm. Mit Hilfe der Hemmhofmittelwerte konnte die Konzentration der Serumprobe an den Standardgeraden ab-

gelesen werden. Auf diese Weise wurden die Serumkonzentrationen für alle 8 Proben ermittelt.

Da die Bestimmung einer einzigen Probe 2 Standardgeraden notwendig machte, für 8 Proben also 16 Standardgeraden, bedeutete die graphische Auswertung des ST einen großen Zeitaufwand (siehe später bei den Ergebnissen 3.1.). Die erhaltenen 8 Konzentrationswerte wurden nun wie beim PLT auf halblogarithmischem Papier gegen die Abnahmezeiten aufgetragen, was wieder 2 Geraden ergab (Abb. 14), die den Gentamycin-Abfall i.S. nach der 1. und 3. Injektion verdeutlichen.

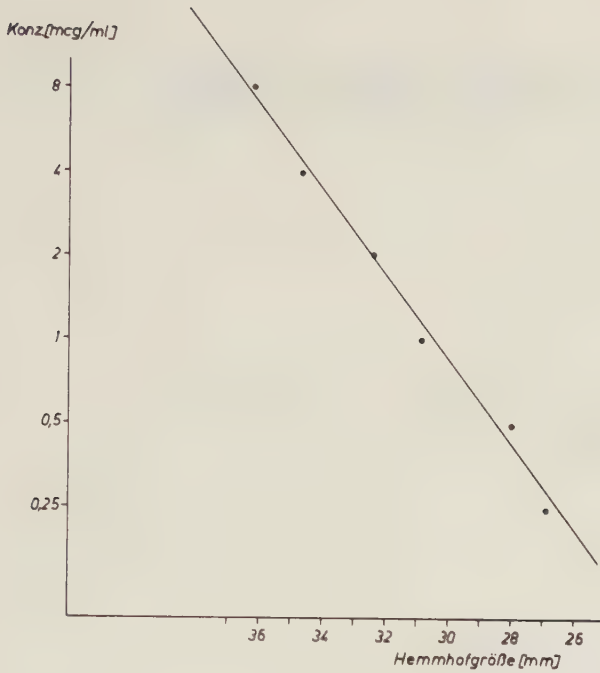


Abb. 11 Standardgerade beim PLT und mit ihr ermittelte Serum-Konzentration

Beisp.:

Konz.	1:	32,65 mm	=	2,15 mcg/ml
"	2:	32,4 "	=	2 "
"	3:	31,65 "	=	1,53 "
"	4:	31,5 "	=	1,45 "
"	5:	35,17 "	=	5,2 "
"	6:	35 "	=	4,9 "
"	7:	34,85 "	=	4,7 "
"	8:	34,8 "	=	4,6 "

Abb. 12 Gentamycin-Abfall i.S. nach der
1. und 3. Injektion beim PLT

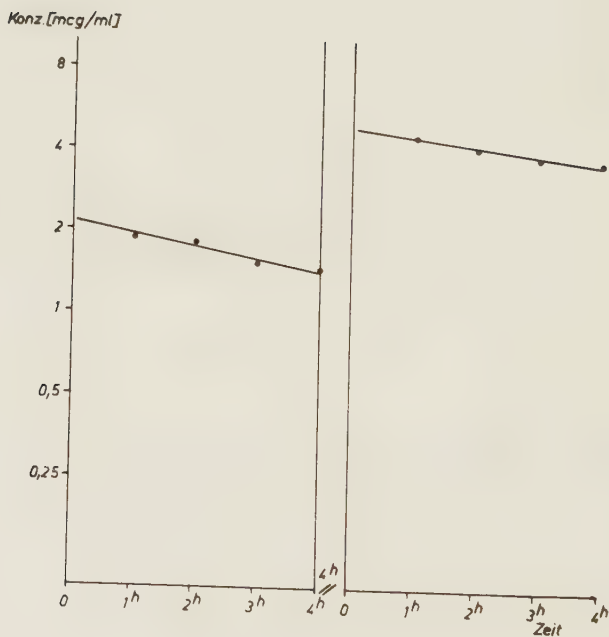


Abb. 13 Standardgeraden und mit ihnen ermittelte Serum-Konzentrationen beim ST

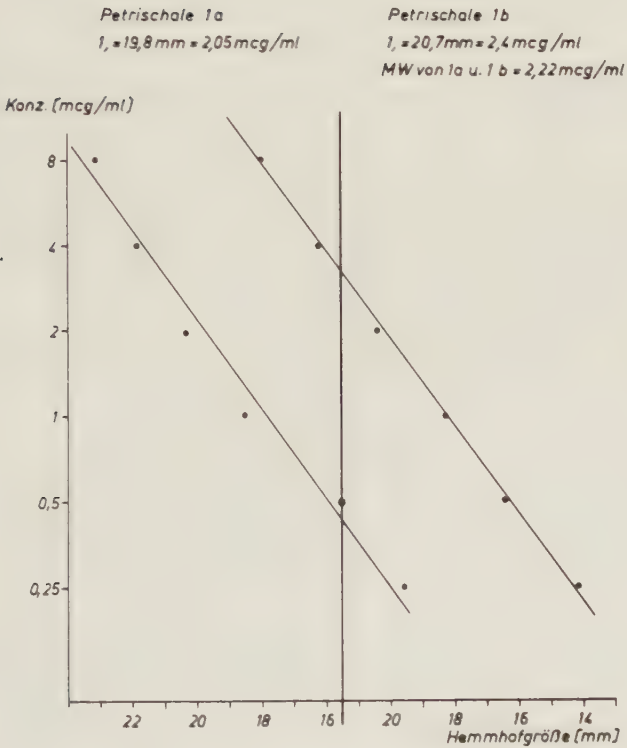
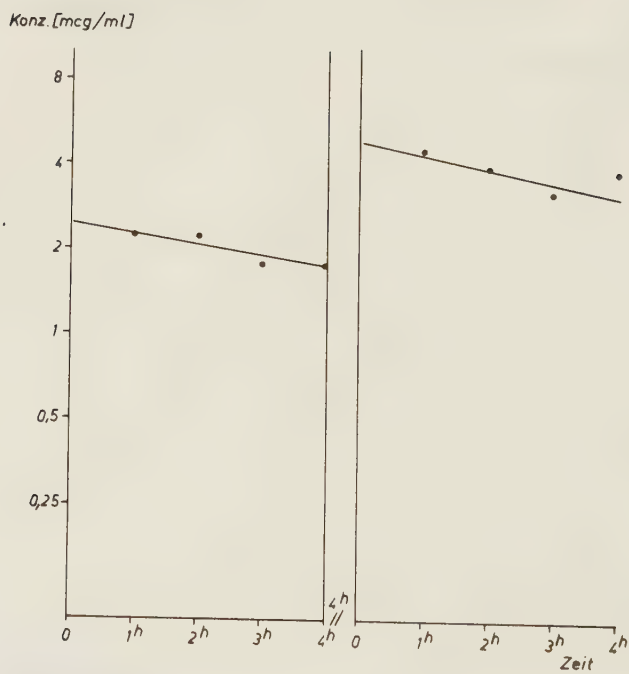


Abb. 14 Gentamycin-Abfall i.S. nach der
1. und 3. Injektion beim ST



Da der Durchmesser der Hemmhöfe von verschiedenen Faktoren abhängt (s.o.), ergaben sich für beide Methoden unterschiedliche Hemmhofgrößen. Der jeweils größte und kleinste gemessene Durchmesser betrug:

PLT:	Standard	40,2 mm	und	19,8 mm
	Proben	41 mm	und	24,5 mm

ST:	Standard	25 mm	und	8,5 mm
	Proben	23,5 mm	und	13,5 mm

Die Hemmhofgrößen lagen also beim PLT zwischen 41 und 19,8 mm und beim ST zwischen 25 und 8,5 mm.

Für die Auswertung war die Größe der Hemmhöfe ohne Bedeutung, außer der Tatsache, daß bei den wesentlich kleineren Hemmhöfen des ST ein etwaiger Ablesefehler viel stärker ins Gewicht fallen würde wie beim PLT.

2.6. Auswertung mit dem Computerprogramm

Höffler, Fiegel und Müller entwickelten neben dem bereits erwähnten Computerprogramm zur Bestimmung der Cr-51-EDTA-Clearance auch ein Computerprogramm zur exakten Berechnung von Antibiotika-Konzentrationen und Halbwertszeiten. Dieses Programm wurde auch für die Gentamycin-Konzentrationsbestimmung verwendet. In der folgenden mathematischen Ableitung soll aufgezeigt werden, wie die gesuchten Größen, nämlich die Gentamycin-Konzentration und die Halbwertszeiten errechnet wurden.

Im ersten Schritt wird der Zusammenhang zwischen Konzentration und Hemmhof durch eine Exponentialfunktion beschrieben. Zur Bestimmung dieser Funktion werden zu vorgegebenen Konzentrationen die zugehörigen Hemmhöfe bestimmt. Die Punktepaaire (k_i, h_i) , $i=1, \dots, n$ werden benutzt zur Beschreibung des exponentiellen Zusammenhanges

$$(1) \quad K = a e^{bH}$$

mit $K :=$ Konzentration

$H :=$ Hemmhof

$a, b = \text{const.}$

Logarithmiert man Gleichung (1), so erhält man

$$(2) \quad \ln(K) = \ln(a) + b \cdot H$$

Diese Gleichung beschreibt einen linearen Zusammenhang der Variablen $\ln(K)$ und H . Gleichung (2) gewinnt man mit Hilfe der Regressionsrechnung aus den gegebenen zusammengehörigen Punktepaaire (k_i, h_i) , $i = 1, \dots, n$. Damit ist auch Gleichung (1) bekannt.

(Die Straffheit der paarweisen Zusammenhänge der beiden Variablen wird durch den berechneten Korrelationskoeffizienten r gekennzeichnet).

In einem zweiten Schritt will man die Beziehung zwischen Zeit als unabhängiger und Konzentration als abhängiger Variablen darstellen.

$$K = f(t).$$

Auch hier ist der exponentielle Zusammenhang bekannt:

$$(3) \quad K = u \cdot e^{vt}$$

K := Konzentration

t := Zeit

$u, v = \text{const.}$

Die Konzentrationen sind zunächst unbekannt, sie werden durch die zugehörigen Hemmhöfe ermittelt. Gegeben sind also Wertepaare (t_j, h_j) , $j=1, \dots, r$. Aus Gleichung (1) bestimmt man die zum Hemmhof h_j zugehörige Konzentration k_j

$$k_j = a \cdot e^{b \cdot h_j}, \quad j = 1, \dots, r.$$

Man kennt nun zusammengehörige Punktepaaire (t_j, k_j) , $j=1, \dots, r$, die den Zusammenhang (3) beschreiben. Wie im ersten Schritt wird mit den Paaren $(h_j, \ln(k_j))$, $j=1, \dots, r$ eine lineare Regressionsrechnung durchgeführt, durch die man die Konstanten u und v gewinnt.

Die Konzentration zum Injektionszeitpunkt gewinnt man aus Gleichung (3) durch Extrapolation ($t = 0$).

$$K_0 = u \cdot e^{v \cdot 0} = u$$

K_0 = Konzentration zum
Zeitpunkt 0

Gesucht ist die Halbwertszeit $T_{1/2}$, bei der die Konzentration auf die Hälfte, also auf $K_0/2$ abgesunken ist.

Setzt man in Gleichung (3) für die Konzentration den Wert $K_0/2 = u/2$ ein, so erhält man die Beziehung

$$\frac{u}{2} = u \cdot e^{v \cdot T_{1/2}} \quad \text{oder} \quad 1 = 2 \cdot e^{v \cdot T_{1/2}}$$

Löst man diese Gleichung nach der Unbekannten auf, so ergibt sich

$$(4) \quad T_{1/2} = - \frac{\ln 2}{v}$$

Nach Formel (4) bestimmt man die Halbwertszeit.

Der Computerausdruck in Abb. 15 zeigt das Ergebnis. In der oberen Hälfte sind die 6 Konzentrationswerte und die gemessenen Hemmhöfe des Standards aufgeführt, in der unteren Hälfte sind die aus den gewonnenen Hemmhofgrößen berechneten Konzentrationen ausgedruckt, wobei der mittlere Wert der für unsere Arbeit maßgebliche war. Ferner sind ausgedruckt die Halbwertszeit (Abk.: HWZ) in min und die Konzentration zum Zeitpunkt Null (p_0). p_0 ist eine virtuelle Größe und gibt diejenige Konzentration an, die zum Zeitpunkt Null bestanden hätte, wenn sich das Gentamycin nach der Injektion in dem zur Verfügung stehenden Raum schlagartig verteilt hätte. p_0 ist eine wichtige Größe zur Berechnung des Verteilungsvolumens (V) nach der Formel: $V = \frac{D}{p_0}$, wobei

D die injizierte Dosis bedeutet. Der in Abb. 15 gezeigte Computer-Ausdruck gibt nur die Konzentrationen von 4 Serumproben wieder, nämlich die 4 Konzentrationen nach der 1. Injektion (1. Abfall). Die 4 Konzentrationswerte nach der 3. Injektion (3. Abfall) wurden auf einem analogen Programmausdruck aufgezeichnet. Für beide Testplatten pro Versuch waren daher beim PLT 4 Programmausdrucke notwendig.

Beim ST mußte die Computerauswertung etwas modifiziert werden. Hier konnte jeder einzelne Programmausdruck nur eine einzige Konzentration wiedergeben (Abb. 16); da auf einer Petrischale nur ein Probeserum aufgebracht war. Für die 16 Petrischalen eines Versuches waren also 16 Programmausdrucke notwendig. Zur Berechnung von p_0 und der HWZ war nun ein 2. Schritt zu tun. Die zuvor errechneten Einzelkonzentrationen wurden dem Computer eingegeben und zwar die 4 Konzentrationen des 1. und des 3. Abfalls getrennt. Die eingegebenen Konzentrationen waren hierbei die Mittelwerte aus jeweils 2 parallelen Petrischalen. Für jeden Abfall konnte nun auf einem Computerausdruck p_0 und die HWZ errechnet werden.

Abb. 15 Programmausdruck zur Bestimmung der Gentamycin-Konzentration beim PLT

1. Siebel, Karl (Lochtest) Platte 1

Konzentration	HH gemessen	HH errechnet	Differenz
8.000	36.000	36.389	.521
4.000	34.650	34.430	-.637
2.000	32.350	32.471	.373
1.000	30.850	30.512	-1.107
.500	28.000	28.552	1.935
.250	26.900	26.593	-1.152

Regressionsgerade			
Regressionskoeffizient	B =	.153	+
Absolutglied	A =	-4.687	+
Korrelationskoeffizient	R =	.995	
Mittlerer Fehler	=	.060	
des Schaetzweres	=	.020	
Chiquadrat-Wert			

Konzentration errechnet aus Hemmhof				Konz. berechnet		
Zeit	Hemmhof	KMIN	Mittlerer Wert	KMAX	aus Zeit	Differenz
60.000	32.650	1.902	2.130	2.385	2.153	1.055
120.000	32.400	1.741	1.950	2.183	1.855	-5.077
180.000	31.650	1.335	1.495	1.674	1.599	6.500
240.000	31.500	1.266	1.418	1.588	1.378	-2.870

Regressionsgerade			
Regressionskoeffizient	B =	-.001	+
Absolutglied	A =	.397	+
Korrelationskoeffizient	R =	-.966	
Mittlerer Fehler	=	.027	
des Schaetzweres	=	.012	
Chiquadrat-Wert			

Konzentration zum Zeitpunkt Null	=	2.498	im Intervall (	2.142,	2.913)
Halbvertzeit	=	279.900	im Intervall (	203.126,	449.971)

Abb. 16 Programmausdruck zur Bestimmung der
Gentamycin-Konzentration beim ST

1. Petrischale 1 B (bei 60')

Konzentration	HH gemessen	HH errechnet	Differenz
8.000	24.000	24.253	.002
4.000	22.200	22.224	.000
2.000	20.400	20.186	.002
1.000	18.300	18.147	.001
.500	16.400	16.108	.005
.250	13.700	14.069	.009

Regressionsgerade

Regressionskoeffizient B = .147 +- .005
 Absolutglied A = -2.679 +- .101
 Korrelationskoeffizient R = .997
 Chiquadrat-Wert =

Gleichung der zugehörigen Exponentialfunktion

Konzentration = .002 MAL E HOCH (.339 * Hemmhofdurchmesser)

Liste der angegebenen HH Werte und der daraus errechneten Konzentrationen
 S Konz = mittlerer Fehler der aus der Regressionsgeraden geschätzten Konzentration
 bei gegebenem HH

Kon.Ber.	S Konz	HH Gemessen	Zeit Probe
2.381	1.046	20.700	60.

3. Ergebnisse

3.1. Vergleich in der technischen Durchführung

Bei dem Vergleich beider Tests, die in ihrer Durchführung bereits ausführlich dargelegt wurden, interessierte jetzt die Frage, in welchen Punkten besondere Unterschiede zu verzeichnen waren und zwar hinsichtlich des Labormaterials, des Zeitaufwandes und der Fehlermöglichkeiten bei der Durchführung.

a) Labormaterial

Die beim PLT und ST verwendeten Materialien wurden bei der Ausführung der Konzentrationsbestimmungen bereits erwähnt und sollen hier nochmals zusammenfassend aufzeigt werden.

Für beide Tests gemeinsam benötigte Materialien:

- 1 Meßzylinder für aqua dest. (100 ml)
- 2 Glaskolben für die Agarmischung
aqua dest., Indikatorpapier, NaOH
- Dreibein
- Wasserwaage
- Autoklav zum Sterilisieren des Agars
- Wasserbad zur Einstellung der entsprechenden Wassertemperatur
- Bunsenbrenner

Für jeden Test unterschiedlich benötigte Materialien:

PLT

- 2 geschliffene Kristall-
glasplatten 15 x 27 cm
- Stahlstanzrohr $\varnothing$ 9 mm

ST

- 16 Petrischalen, $\varnothing$ 8,7 cm
- kleiner Meßzylinder (ca. 7 ml)
- Filtrierpapierplättchen, $\varnothing$ 6 mm

Einmalskalpelle	der Fa. Schleicher & Schüll,
Dosierspritze (0,1 ml)	Kontr.-Nr. 2668
6 Glaskolben (je 500 ml)	1 Glasplatte 20 x 30 cm zum
mit entkalktem Wasser	Auflegen der Papierplättchen
Brutschrank	2 Pinzetten
Ablesegerät	1 Eppendorf-Pipette (20 mcl)
Merck-Antibiotic-Agar	mit Pipettenspitzen
Nr. 5, Art.-Nr. 5271,	1 großes abdeckbares Wasserbad
Chargen-Nr. 9061755	für 16 Petrischalen
Bacillus subt. ATCC	1 Schublehre
6633 als Merck-Sporen	Merck-Antibiotic-Agar Nr. 5,
suspension, Art.-Nr.	Art.-Nr. 5271 Chargen-Nr.
5275	9011937, Bacillus stearother-
	mophilus (lyophilisierte Sporen
	in Ampullen)

Das Labormaterial ist also trotz der unterschiedlich benötigten Dinge von ähnlichem Umfang und kann auch in einem kleinen Raum untergebracht werden. Die finanziellen Aufwendungen dürften sich ebenfalls die Waage halten, da beim FLT den höheren Anschaffungskosten (Kristallglasplatten, Brutschrank, Ablesegerät) die etwas höheren Verschleißkosten beim ST (jeweils neue Petrischalen, Filtrierplättchen, Pipettenspitzen) gegenüberstehen.

b) Zeitbedarf

Abgesehen von der unterschiedlich langen Inkubationszeit (PLT: 12 Stunden, ST: 3 Stunden) ist der zeitliche Arbeitsaufwand beim ST höher als beim PLT. Bereits das Ausgießen des Agars in die 16 Petrischalen erfordert einige Zeit mehr als bei den 2 Glasplatten des PLT. Das Auflegen der Filtrierpapierplättchen auf die Glasplatte, das Beschicken derselben mit Standard- und Test-

serum und das Auflegen der getränkten Plättchen auf die Petrischalen dauert ebenfalls etwas länger als das beim PLT nötige Ausstechen und Ausheben der Agarlöcher, deren Füllung mit den Seren und dem umständlichen zehnmaligen Ausspülen der Dosierspritze.

Stark ins Gewicht fällt zuungunsten des ST das Ablesen der Hemmhöfe. Während das Ablesen eines einzelnen Hemmhofes mittels der Schublehre etwa die gleiche Zeit beansprucht wie das Ablesen mit dem Ablesegerät beim PLT, so sind doch beim ST $16 \times 9 = 144$ Hemmhöfe abzulesen gegenüber nur $2 \times 16 = 32$ Hemmhöfe beim PLT.

Der größte Zeitunterschied entsteht erst durch die Auswertung der beiden Tests, besonders durch die graphische Auswertung, die beim ST das Erstellen von 16 Standardgeraden erfordert gegenüber nur 2 Geraden beim PLT.

c) Fehlermöglichkeiten beim Arbeiten

aa) Fehlermöglichkeiten bei beiden Methoden

Eine große Fehlermöglichkeit, die bei beiden Tests auftreten kann, ist eine ungenaue Zusammensetzung des Standards.

Eine ebenfalls bei beiden Methoden vorkommende Fehlerquelle ist eine unterschiedliche Schichtdicke des Agars innerhalb einer Platte, meist als Ursache von nicht in genau wagerechte Lage gebrachten Glasplatten und Petrischalen. Bei den Petrischalen ist dabei die Möglichkeit, verschiedene Schichtdicken innerhalb einer Schale zu erhalten größer als bei den Glasplatten des PLT, da die geringe Agarmenge von 7 ml/Schale beim Gießen in kürzester Zeit erstarrt (1-2 min).

bb) Fehlermöglichkeiten beim PLT

Das beim PLT zum Ausstanzen der Agarlöcher benötigte Stahlrohr muß an seinem unteren Ende sehr scharf geschliffen sein. Dadurch besteht die Gefahr, daß diese dünne Stahlwand durch unsachgemäße Behandlung verbogen wird, wodurch die kreisförmige Stanzfläche verlorengeht, die die Voraussetzung zur Erzielung runder Hemmhöfe ist.

Eine weitere Fehlerquelle beim PLT kann in der unsachgemäßen Handhabung der Dosierspritzen liegen. Es muß gewährleistet sein, daß bei jeder Füllung die gleiche Menge Standard- oder Testserum in jedes Agarloch gegeben wird. Um bei jeder Füllung der Dosierspritze ein Eindringen von Luft und damit eine geringere Füllmenge zu vermeiden, mußte der Kolben wiederholt mit Öl oder Vaseline-Gleitcreme bestrichen werden.

Ferner war eine gründliche Spülung der Dosierspritze (nach jeder Füllung je zehnmaliges Spülen in 6 Kolben mit entkalktem Wasser) notwendig, damit nicht in der Spritze hängengebliebene Antibiotika-Reste die Konzentration der nächstfolgenden Füllung beeinträchtigten.

cc) Fehlermöglichkeiten beim ST

Beim ST bestand beim Tränken der auf der Glasplatte angeordneten Papierplättchen die Gefahr, daß die feuchten Plättchen an der Glasplatte festklebten und beim Abheben mit der Pinzette ihre kreisrunde Form verloren, was ebenfalls zu deformierten Hemmhöfen führte. Daher mußte das Tränken der Plättchen sehr schnell erfolgen.

Eine große Fehlermöglichkeit beim ST bestand auch beim Ablesen durch die Schublehre. Dabei war einmal von Nachteil, daß die Hemmhöfe beim ST einen unschärferen Rand besaßen und zum anderen, daß die Größe der Hemmhöfe be-

deutend kleiner war als diejenige der Hemmhöfe beim PLT. Ein etwaiger Ablesefehler bei den kleineren Hemmhöfen wäre als viel stärker ins Gewicht gefallen wie beim PLT.

Zusammenfassend kann über die Fehlermöglichkeiten gesagt werden, daß sie bei beiden Tests etwa im gleichen Umfange bestanden und keine Testmethode besonders benachteiligt war. Bei Einhaltung der nötigen Sorgfalt konnten sie jedoch weitgehend vermieden werden. Wo dies nicht möglich war, mußte der Versuch unterbrochen und neu begonnen werden.

3.2 Tabelle der gewonnenen Gesamtdaten

3.2 Tabelle der gewonnenen Gesamtdaten

In Tab. 3 sind sämtliche Daten bezüglich der 20 Probanden und die erhaltenen Ergebnisse zusammengefaßt.

Tab. 3 Die Angaben über die 20 Versuchspersonen und die erhaltenen Ergebnisse

														HWZ (min)															
Pat.	Ge- schl	Kreat. mg%	Clea- rance ml/min	Gew. kg	Test	Kons. mcg/ ml	Kons.	Kons.	Kons.	Kons.	Kons.	Kons.	Kons.	1.AbF.	3.AbF.	P ₀	VVK%												
																		60'	120'	180'	240'	60' /3	120' /3	180' /3	240' /3				
Sie. 2.12. 19 (531.)	m.	6,3	14,4	72	S ₁	1,10	2,2	1,7	1,8	4,3	3,9	3,1	4,0	503,5	597,6	2,4	25	1	L										
					S ₂	2,4	2,2	1,8	1,7	4,3	3,6	3,1	3,2																
					L ₁	2,1	1,9	1,5	1,4	5,2	4,9	4,6	4,5							279,9	933	2,5							
					L ₂	1,6	1,6	1,5	1,5	3,7	3,0	2,6	2,6							220,4	343,8	1,6							
2. Wew. (61J.)	w.	3,6	29,1	61	S ₁	3,5	2,6	2,2	2,3	5,3	5,8	5,5	4,2	244,8	577,5	3,9	20												
					S ₂	3,5	2,5	2,4	1,9	5,4	6,4	4,9	4,5																
					L ₁	2,8	2,6	2,3	2,1	6,9	6,2	6,2	5,9							425	900	3,2							
					L ₂	3,2	2,4	1,9	1,9	7,7	6,0	6,0	5,8							241	420	3,0							
3. Alz. (62)	w.	11,6	3,0	51,5	S ₁	2,9	2,5	2,3	1,8	4,8	5,3	4,8	4,2	352,0	401,3	2,0	40												
					S ₂	2,2	2,2	2,2	1,6	6,9	5,0	4,5	4,3																
					L ₁	1,9	1,7	1,5	1,4	7,6	6,5	6,3	5,6							441,4	433,9	2,1							
					L ₂	1,7	1,5	1,5	1,4	7,4	6,9	5,9	5,0							681,6	315,9	1,1							

Pat. ge- schl mg%	Kreat. mg%	Glea- rance	Gev. kg	Test	Konz. (min)												1.Abfr.	3.Abfr.	P _O	VVKg
					Konz. mcg/ ml	60'				120'				180'						
						60'	120'	180'	240'	60' /3	120' /3	180' /3	240' /3	60' /3	120' /3	180' /3	240' /3			
4.				S ₁	4,0	4,3	2,7	2,5	7,4	7,4	6,7	4,5		250,96	281,3	4,9	10			
Bran. m. 2,8 (62J)	19,6	90	S ₂	4,2	2,9	2,7	2,7	7,3	7,2	6,1	4,9									
			L ₁	3,5	2,9	2,7	2,5	7,1	6,6	5,8	5,6				362,7	481,8		3,8		
			L ₂	3,8	3,1	2,7	2,6	8,2	7,6	6,6	6,4				308,8	467,1		4,2		
5.				S ₁	2,3	1,8	1,8	1,5	3,9	3,2	2,7	2,8		243,5	346,9	2,8	16,4			
Bar. m. (62J)	6,4	9,9	S ₂	2,8	1,9	1,6	1,5	4,0	3,6	3,6	3,6									
			L ₁	2,4	1,6	1,3	1,2	4,2	4,4	3,9	3,3				186	499,6		2,8		
			L ₂	1,9	1,6	1,4	1,1	4,7	4,6	4,1	3,6				231,7	473,4		2,3		
6.				S ₁	3,3	2,5	1,9	1,5	8,3	6,9	7,5	4,8		202,6	294,8	3,7	15			
Geo. m. 22 (39J)	1,2	S ₂	3,0	2,1	1,8	1,9	7,3	6,3	6,2	4,8										
		L ₁	2,9	2,3	2,1	2,1	6,2	6,0	5,4	5,4				389,3	813,9	3,1				
		L ₂	2,8	2,5	2,3	1,9	6,3	5,9	5,6	5,2				350	600	3.				
7.				S ₁	3,0	2,1	1,5	1,3	4,2	4,1	3,0	2,9		162,8	283,5	3,8	27			
Bar. m. (60J)	5,3	2,6	S ₂	3,0	2,3	1,7	1,6	4,5	3,9	3,2	2,8									
			L ₁	2,2	1,7	1,4	1,2	4,4	3,9	3,5	3,3				210	427,7		2,6		
			L ₂	1,9	1,4	1,2	1,2	5,7	4,9	3,7	3,6				273,8	252,7		2,1		
8				S ₁	4,3	4,6	3,7	2,9	9,2	7,8	10,9	7,1		308,7	946	5,3	7,3			
Gri. m. 12,5 (50J)	3.	S ₂	4,6	3,9	3,3	3,1	8,9	9,2	7,9	7,9										
		L ₁	5,5	4,7	3,6	3,3	10,7	10,5	10,7	9,9				229,4	220 8	6,6				
		L ₂	6,5	5,5	4,4	4,1	12,5	13,1	11,8	11,3				251,7	1038	7,5				

Pat.	Ge- schl	Kreat. mg%	Clea- rance	Gew kg	Test.	Konz. mcg ml	Konz.	Konz.	Konz.	Konz.	Konz.	Konz.	Konz.	HWZ (min)			VVK%	
														1.AbF.	3.AbF.	P ₀		
α.	ma.	6,1	3,14			60'	120'	180'	240'	60' /3	120' /3	180' /3	240' /3					
9. (36J)						S ₁	4,3	3,9	3,9	3,7	8,9	7,9	5,3	5,8	574,2	388,9	4,7	
						S ₂	4,6	3,9	4,1	3,2	8,5	6,5	7,2	6,9	10,4			
						L ₁	3,5	3,1	2,6	2,3	7,6	5,1	4,7	4,5		290,4	253,5	4.
						L ₂	4,4	3,1	2,6	2,3	5,7	4,8	4,6	2,9		197,7	206,5	5,1
10. (65J)	m	6,9	7,9			S ₁	6,9	5,8	5,4	5,3	13,0	13,3	9,1	8,4	778,4	256,9	6,98	
						S ₂	6,2	6,9	6,2	6,0	13,9	14,4	10,6	9,2	9,5			
						L ₁	10,9	8,6	7,6	7,4	23,4	21,9	21,3	18,2		321,4	533,5	11,8
						L ₂	11,0	8,4	6,8	5,7	28,3	19,3	19,3	18,2		188.	313,3	13,4
11. (54J)	m.	4,3	10,1	54		S ₁	6,7	6,6	5,3	4,9	16,0	13,8	13,8	12,9	466,9	559	6,6	
						S ₂	5,5	4,4	4,6	4,4	11,5	13,1	11,7	8,9	12,4			
						L ₁	5,2	3,4	2,9	2,3	8,2	6,6	5,8	5,7		161,4	335,5	6,4
						L ₂	4,5	3,0	2,8	2,4	8,8	7,5	7,3	6,9		212,5	570,4	
12. (45J)	w.	1.	58,8	63		S ₁	4,4	2,3	1,9	1,3	5,2	3,3	2,9	2,3	117,8	138,8	5,1	
						S ₂	3,6	2,0	1,6	1,3	6,2	3,4	2,5	2,3	11			
						L ₁	4,0	3,1	2,0	1,3	5,4	4,1	3,3	2,3		114,4	147,1	6.
						L ₂	3,6	2,3	1,6	1,0	5,1	3,8	3,2	2,5		100,8	176,8	5,4
13. (41J)	w.	9,4	4.	48		S ₁	2,5	2,9	2,3	2,4	8,8	6,1	5,3	4,8	418,4	272,2	3,2	
						S ₂	3,5	2,5	2,4	2,2	7,1	6,2	5,1	5,3	20,9			
						L ₁	4,2	3,3	2,6	2,4	7,8	7,2	6,3	6,3		208,2	549,5	5.
						L ₂	3,1	2,9	2,6	2,6	7,4	6,9	6,4	5,6		632.	470.	3,3

Pat.	ge- schl.	Kreat. mg%	Clea- rance	Gew. kg	Test	Konz.								HWZ (min)			VV%kg	
						mcg ml	60'	120'	180'	240'	60' /3	120' /3	180' /3	240' /3	1.AbF.	3.AbF.		P _O
14.					S ₁	6,1	3,9	3,8	3,8	9,9	7,1	9,7	6,9	377,6	547,2	5,5	9,4	
Neu. w. (55J)	8.	4,8	78	S ₂	4,9	3,8	3,9	3,7	9,6	9,5	7,1	8,1						
				L ₁	5,7	5,0	4,6	4,3	12,0	11,6	11,4	10,9	479,8	1380	6,1			
				L ₂	4,9	4,4	4,2	4,2	12,7	12,5	11,5	10,6	900,9	668	4,9			
15.					S ₁	1,9	1,7	1,8	1,3	4,9	4,2	4,5	3,5	219,8	346,1	2,7	20	
Loo. m. (49J)	12.	2,8	74	S ₂	2,6	1,7	1,7	1,1	4,6	3,6	3,6	2,8						
				L ₁	2,5	1,5	1,5	1,2	5,3	4,5	4,3	3,9	182,8	446,	2,9			
				L ₂	2,1	1,5	1,3	1,1	5,0	4,0	3,7	3,3	219,5	315,8	2,3			
16.					S ₁	4,3	3,6	3,4	2,9	9,6	6,9	6,7	6,1	454,2	298,	4,4	8	
Fuh. m. (51J)	14.	2.	89	S ₂	4,1	3,3	3,1	3,4	9,3	7,5	7,7	5,7						
				L ₁	5,2	3,9	3,4	3,1	10,6	8,9	8,1	7,0	272,5	319,2	5,6			
				L ₂	5,2	3,9	3,3	2,9	9,6	8,4	7,8	6,7	214,2	358	6			
17.					S ₁	4,3	3,6	2,9	2,8	9,5	6,3	4,9	5,2	162,4	284,9	5,9	12,6	
Mit. w. (39J)	4,25	4,2	53	S ₂	4,5	3,7	2,9	1,9	7,0	8,0	5,3	6,1						
				L ₁	5,8	3,6	2,7	2,5	9,4	7,1	5,8	4,8	148,	188,6	6,9			
				L ₂	4,2	3,7	2,8	2,5	9,1	8,0	5,4	4,6	226,8	172,2	5,1			
18.					S ₁	5,4	3,9	3,1	3,2	9,5	8,1	7,0	6,4	283	428,3	5,4	9	
Kei. m. (43J)	3,1	21,5	70	S ₂	4,7	3,6	3,4	3,1	7,0	6,4	6,3	5,9						
				L ₁	5,7	4,3	3,7	3,1	9,3	8,7	6,9	6,6	215,4	332,9	6,6			
				L ₂	5,7	4,1	3,6	3,4	11,5	10,5	7,2	6,2	246,7	188,9	6,2			

Pat.	ge- sch.	Kreat. mg%	Clea- rance	Gew. kg	Test	Konz.	Konz.	Konz.	Konz.	Konz.	Konz.	Konz.	HWZ (min)				VVKg
						mcg ml							1.AbF.	3.AbF.	P _O		
						60'	120'	180'	240'	60' /3	120' /3	180' /3	240' /3				
19.					S ₁	3,3	2,8	2,8	2,4	9,5	6,2	5,8	5,8	480,5	350,3	3,4	33
Sch.	m.	13,7	9,99	47	S ₂	3,2	2,6	2,7	2,5	7,6	6,1	5,8	5,8				
(60J)					L ₁	2,4	2,1	1,9	1,8	7,1	5,6	5,2	4,4	442,	269,	2,6	
					L ₂	2,3	1,8	1,6	1,4	9,5	8,3	6,3	6,0	260,7	253,5	2,6	
20.					S ₁	1,9	1,8	1,8	1,3	4,8	4,2	4,6	3,6	219,1	336,4	2,7	20
Mül.	m.	11.	3,1	74	S ₂	2,6	1,8	1,6	1,2	4,5	4,6	3,5	2,8				
(52J)					L ₁	2,5	1,5	1,5	1,2	5,4	4,6	4,4	3,9	182,3	419,8	2,4	
					L ₂	2,1	1,5	1,3	1,2	4,9	4,0	3,7	3,3	214,1	325,6	2,4	

MW von
20 Pat.
16,8

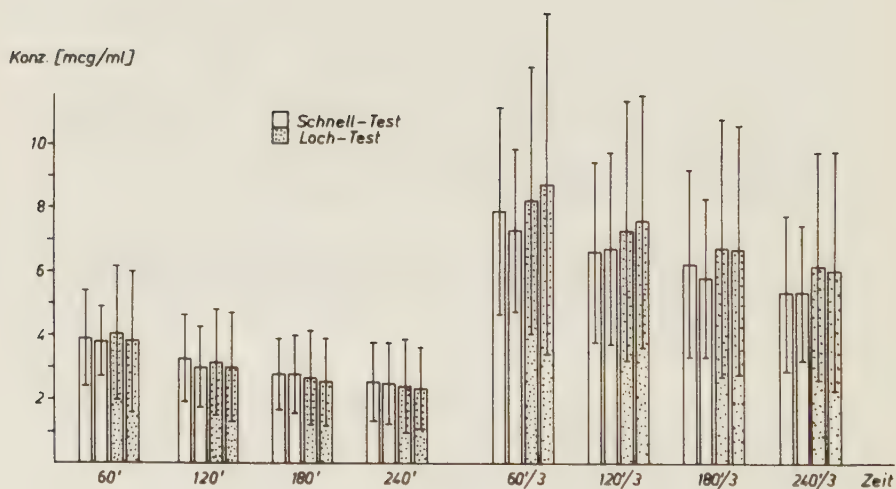
3.3. Vergleich der Absolutwerte beider Methoden

Zunächst war von Interesse, welche Unterschiede sich in den Absolutwerten der Gentamycin-Konzentrationen beider Methoden ergaben. Zu diesem Zweck wurde für jeden der 8 Testwerte der Mittelwert aus allen 20 Fällen errechnet und zwar jeweils von beiden Parallelmessungen bei beiden Tests. Das Säulendiagramm in Abb. 17 zeigt die graphische Darstellung der 32 Werte. Jede der 32 Säulen stellt den Mittelwert eines Testwertes bei einer bestimmten Abnahmezeit aus allen 20 Probanden dar. S_1 und S_2 bedeuten St 1 und 2, d.h. die bei den jeweiligen Abnahmezeiten gemessenen Konzentrationswerte der Petrischale a und b. Ebenso sind L_1 und L_2 die Konzentrationswerte des PLT von Platte 1 und 2. In jeder Säule ist die vom Computer errechnete Standardabweichung eingetragen, die im 3. Abfall bedeutend größer ausfiel als im 1. Abfall.

Bildet man jeweils den Mittelwert von S_1 und S_2 und von L_1 und L_2 (Tab. 4), so kann man einen einfachen zahlenmäßigen Vergleich der Absolutkonzentrationen beim ST und PLT vornehmen.

Es ergibt sich beim 1. Gentamycin-Abfall (bei allen 20 Fällen) ein um 3,3 % höherer Wert für den ST, beim 3. Abfall jedoch ein um 11 % höherer Wert für den PLT. Betrachtet man den 1. und 3. Abfall (8 Werte) zusammen, so liegt der PLT insgesamt um 3,9 % höher als der ST. Abb. 18 zeigt das Ergebnis nochmals in graphischer Darstellung mit Hilfe der Mittelwerte aus S_1 und S_2 sowie L_1 und L_2 . Die eingezeichneten Konzentrationswerte zu den 4 Zeitpunkten entsprechen der Tab. 4. Man erkennt leicht die geringfügig höheren Werte des ST im 1. Abfall und die etwas stärker erhöhten Werte des PLT im 3. Abfall.

Abb. 17 Vergleich der Absolutwerte beider Methoden im Säulendiagramm (je Abnahmezeit der Mittelwert aus allen 20 Fällen) mit Standardabweichungen.



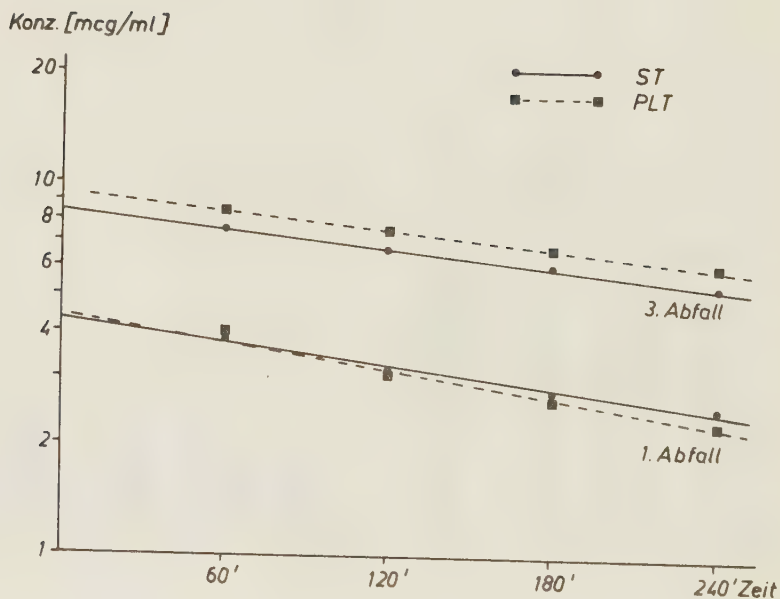
Tab. 4

Statistische Maßzahlen:

Mittelwert ($\bar{x}$) und Standardabweichung (S)
der Gentamycin-Konzentration (mcg/ml)
von 20 Probanden im PLT und ST.

Zeit	<u>Schnell-T</u>		<u>Loch-T</u>	
	$\bar{x}$	S	$\bar{x}$	S
60'	3,83	1,3	3,93	2,16
120'	3,15	1,3	3,08	1,69
180'	2,81	1,17	2,62	1,42
240'	2,52	1,22	2,37	1,34
60'/3	7,56	2,77	8,45	4,74
120'/3	6,67	2,92	7,4	3,97
180'/3	6	2,67	6,68	3,93
240'/3	5,3	2,25	6,07	3,62

Abb. 18 Graphische Darstellung der Absolutwerte
(Mittelwerte aus S_1 und S_2 sowie
 L_1 und L_2) beider Methoden bei 20 Fällen
(1. und 3. Abfall)



3.4. Korrelationsdiagramme (Abb. 19)

Eine Beziehung zwischen ST und PLT kann auch mit Hilfe der Korrelationsdiagramme hergestellt werden. Vergleicht man z.B. die mittleren Konzentrationswerte aller 20 Patienten bei jeweils allen 8 Abnahmezeiten von S_2 gegen L_2 , so ergibt sich die lineare Regressionsgleichung:

$$y_L = b \cdot x_S + a$$

Die Regressionsgleichungen errechneten sich aus folgenden Größen:

b = Regressionkoeffizient

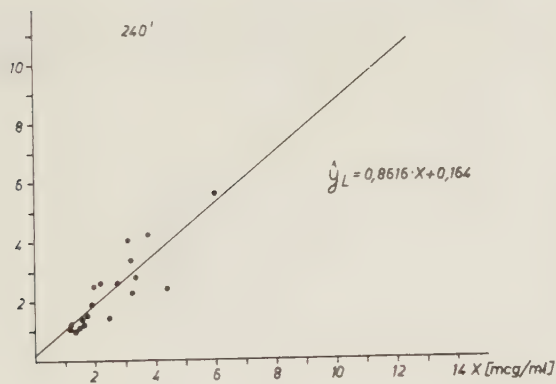
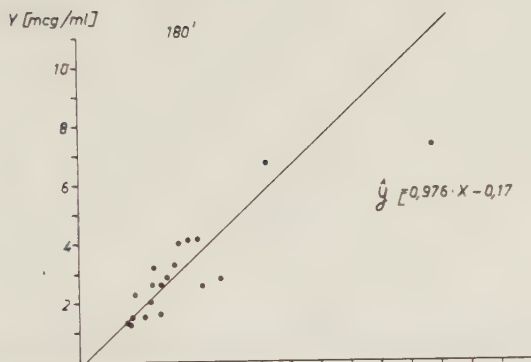
$a = \bar{y} - b \cdot \bar{x}$, wobei

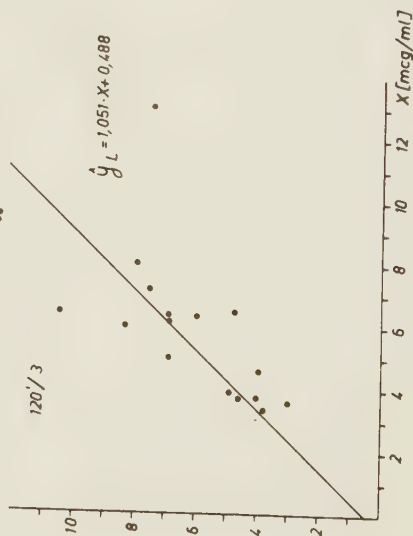
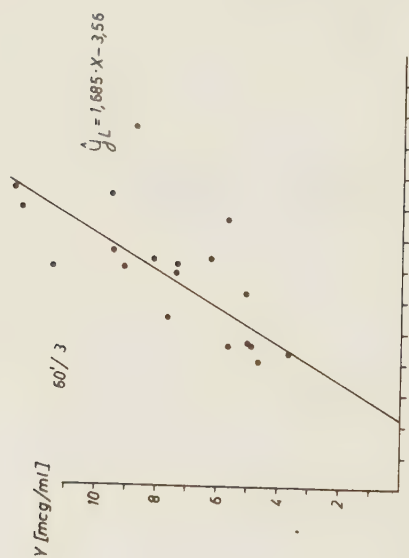
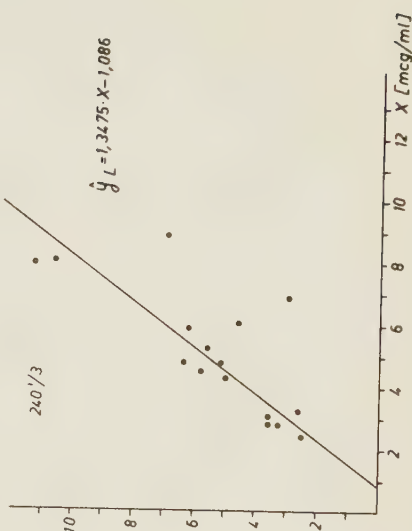
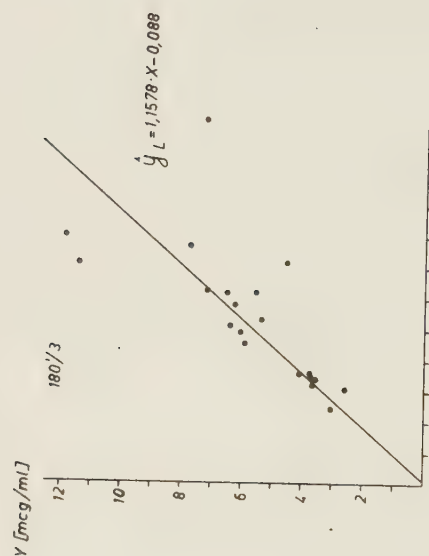
$\bar{y}$ = der MW der Konzentrationen von 20
Probanden bei jeweils einer bestimmten
Abnahmezeit von L_2

$\bar{x}$ = der MW der Konzentrationen von 20
Probanden bei jeweils einer bestimmten
Abnahmezeit von S_2 .

Es zeigt sich bei allen 8 Diagrammen eine gute Beziehung zwischen S_2 und L_2 . Ähnliche Beziehungen zwischen beiden Tests haben auch Spring et al. (19) festgestellt.

Die Straffheit des Zusammenhanges beider Tests ist nach der 1. Injektion stärker als nach der 3.





3.5. Präzision als Gütemaß der Reproduzierbarkeit

Als Gütekriterium für die Meßgenauigkeit bei wiederholten Messungen der gleichen Serum-Konzentration gilt die Präzision. Bei Doppelbestimmungen pro Methode errechnet sich die Präzision (S^2) nach der Formel:

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x}_{i\ 1} - \bar{x}_{i\ 2})^2}{2\ n}$$

Je kleiner der Wert ausfällt, umso größer ist die Meßgenauigkeit, d.h. die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

In Tab. 5 sind die Werte für die Präzisionen zu allen 8 Abnahmezeitpunkten aufgeführt.

Tab. 5 Die ermittelten Präzisionen aus jeweils
20 Versuchspersonen bei allen 8
Abnahmezeiten:

	Schnell-Test	Lochtest
60'	0,191	0,205
120'	0,241	0,065
180'	0,045	0,043
240'	0,043	0,107
	MW 0,13	MW 0,105
60'/3	1,180	1,237
120'/3	0,436	0,853
180'/3	0,838	0,376
240'/3	0,592	0,387
	MW 0,761	MW 0,713
Gesamt MW aus allen 8 Werten:	0,445	0,409

Es zeigt sich, daß sich sowohl beim 1. als auch beim 3. Abfall für den PLT eine etwas kleinere Präzision als beim ST ergibt, was eine geringfügig bessere Reproduzierbarkeit der Ergebnisse beim PLT beweist.

Ferner zeigt sich sowohl beim PLT als auch beim ST im 3. Abfall ein bedeutend größerer Wert für die Präzision und somit eine schlechtere Meßgenauigkeit für Doppelbestimmungen gegenüber dem 1. Abfall.

3.6. Graphische Darstellung des pharmakokinetischen Verhaltens von Gentamycin beim PLT

In den folgenden Abbildungen 20-26 wird graphisch veranschaulicht, wie die Serumkonzentration des Gentamycins nach der 1. und 3. Injektion abfällt. Dargestellt ist jeweils der 1. und 3. Abfall beim PLT bei allen 20 Einzelpatienten.

Abb. 20-26 Graphische Darstellung des pharmakokinetischen Verhaltens von Gentamycin beim PLT. 1. und 3. Abfall von allen 20 Einzelpatienten

Pat. 1 Sie.

Pat. 2 Wev.

Pat. 3 Alz.

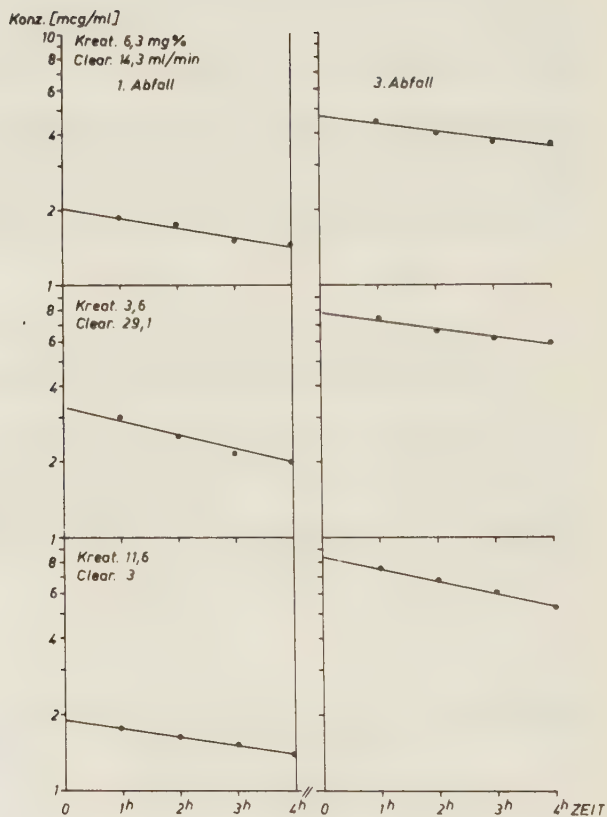


Abb. 20

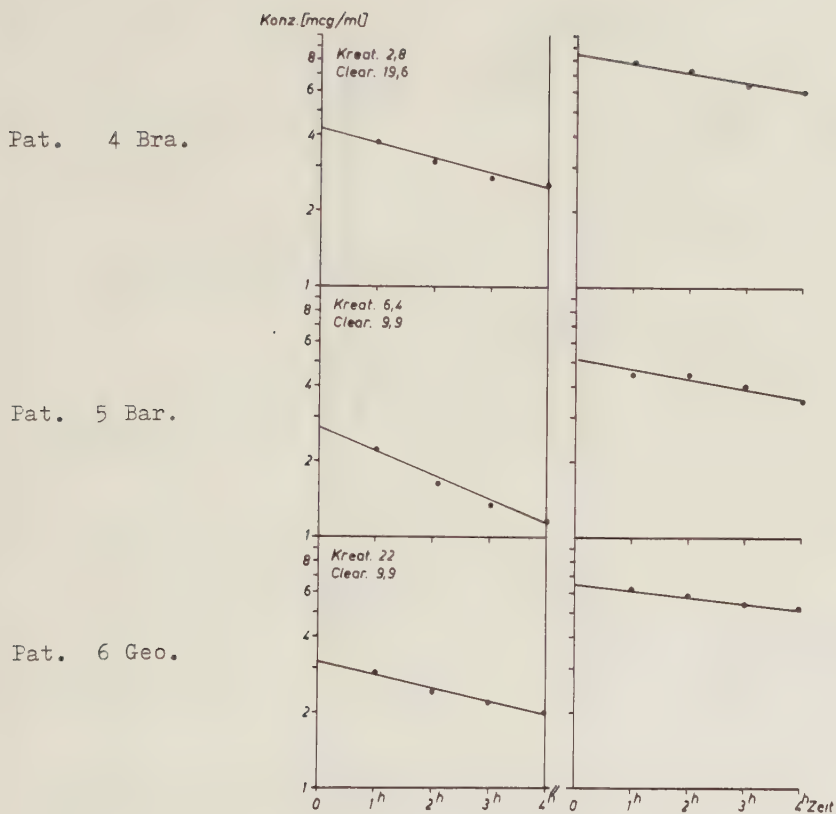


Abb. 21

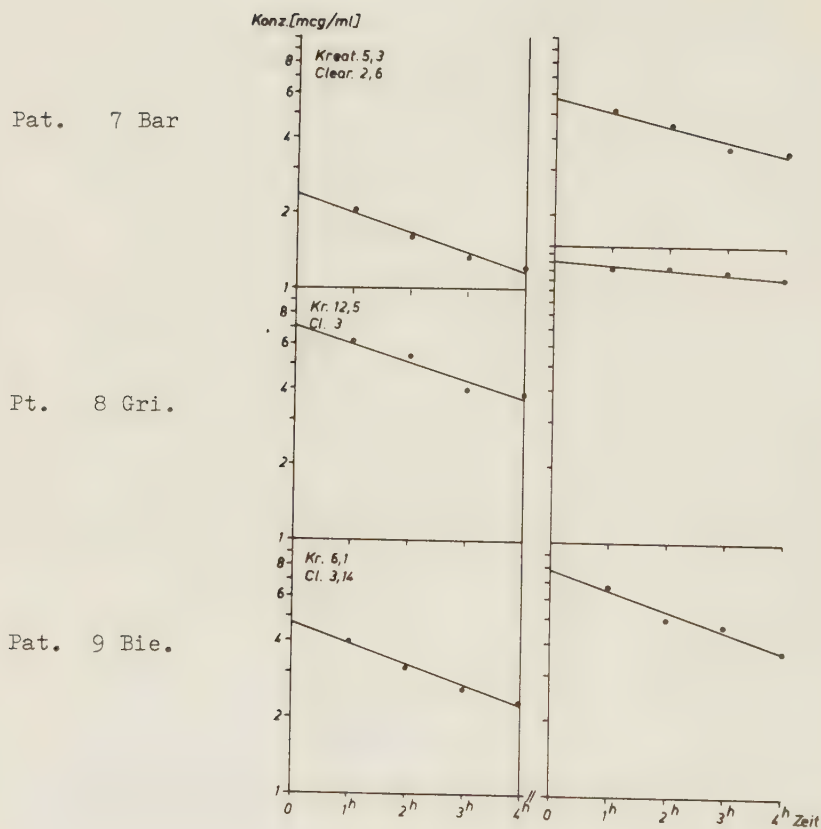


Abb. 22

Pat. 10 Loe.

Pat. 11 Bad.

Pat. 12 Luc.

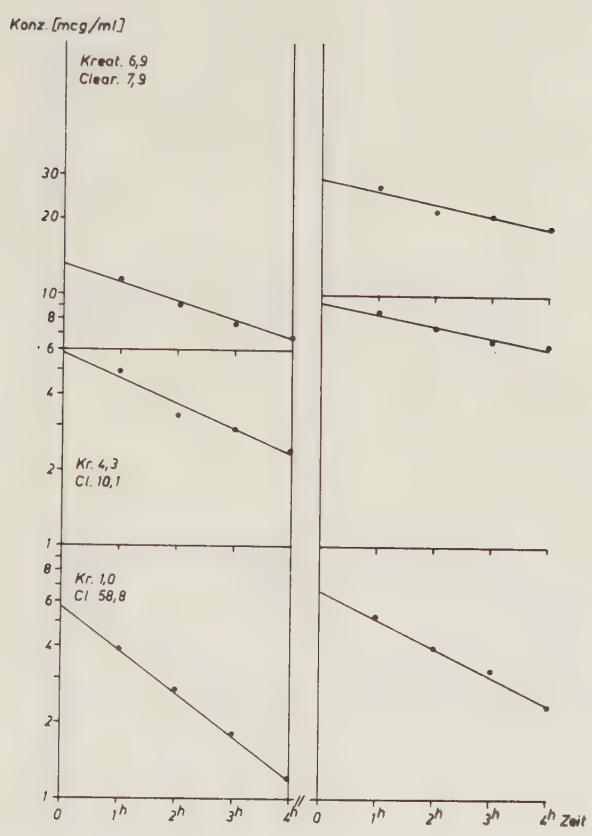


Abb. 23

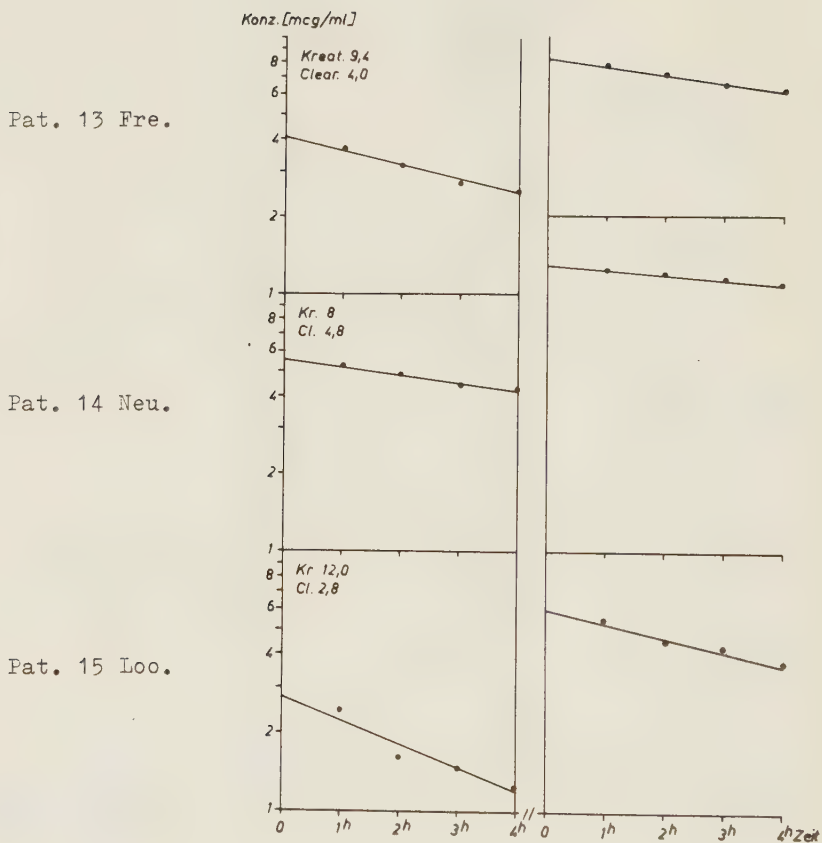


Abb. 24

Pat. 16 Fue.

Pat. 17 Mit.

Pat. 18 Kei.

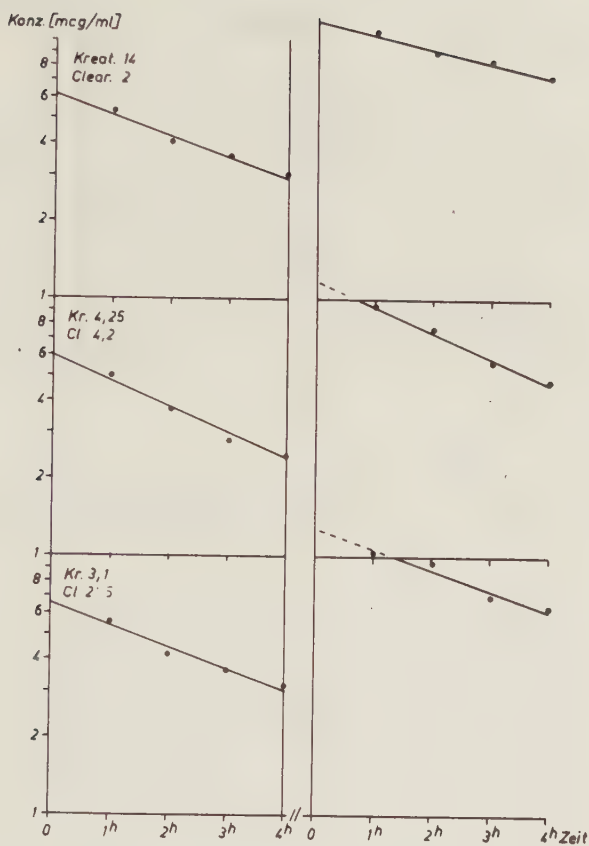


Abb. 25

Pat. 19 Sch.

Pat. 20 Mue.

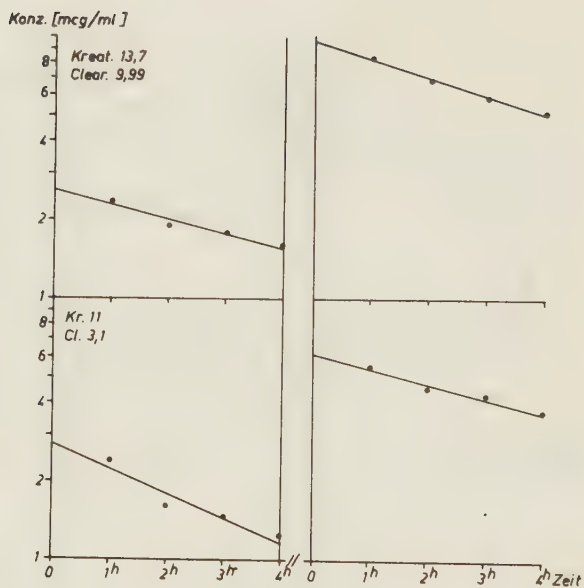


Abb. 26

4. Diskussion

Der Vergleich der beiden Methoden läßt erkennen, daß die Schnelltestmethode nahezu gleiche Ergebnisse liefert wie die konventionelle Lochtestmethode. Insbesondere erscheint die Reproduzierbarkeit ein- und desselben Wertes mit beiden Methoden nahezu identisch (Vgl. Tab. 5). Betrachtet man alle Werte gemeinsam, so ergeben sich beim Plattenlochtest etwas höhere Werte, wobei die Differenz bei knapp 4 % liegt. Dies ist eine Größenordnung, die für klinische Verhältnisse völlig belanglos ist.

Zusammenfassend kann also davon ausgegangen werden, daß die Schnelltestmethode bezüglich absoluter Höhe und Reproduzierbarkeit dem Plattenlochtest nicht nachsteht.

Bei der praktischen Arbeit stellte sich jedoch heraus, daß der Schnelltest mit *Bacillus stearothermophilis* an Sorgfalt und Geduld des Experimentators größere Anforderungen stellt als der Plattenlochtest. Insbesondere nimmt das Ablesen mehr Zeit und Erfahrung in Anspruch. Man wird somit den Schnelltest nicht als Routinemethode zur Bestimmung von Antibiotikaspiegeln empfehlen können, vielmehr für wissenschaftliche Untersuchungen und Untersuchungen eines größeren Untersuchungsgutes nach wie vor den klassischen Plattenlochtest anwenden. Dreht es sich jedoch um die rasche Beschaffung einzelner Spiegelwerte, so wie es in der Klinik neuerdings gefordert wird, so kann der Schnelltest vorbehaltlos empfohlen werden. Die Methode erlaubt es, im Laufe des Vormittages abgenommene Blutproben im Laufe des Tages zu messen und die Werte bereits nachmittags dem Klini-

ker zur Verfügung zu stellen. Er kann danach dann sein Therapieschema abwandeln. Daß dieses Vorgehen zu einem erheblichen therapeutischen Fortschritt führt, konnte Noone et al. zeigen (16). Eine solche "Konzentrations-adjustierte Antibiotikatherapie" erlaubt es, die gesamte therapeutische Breite einer antibakteriellen Substanz auszuschöpfen. Dies ist zweifellos im Routinefall überflüssig, kann aber in klinisch schwierigen Fällen, zum Beispiel bei gram-negativer Sepsis lebensrettend sein. Solch eine "Konzentrations-adjustierte-Therapie" ist aber mit Werten, die jeweils erst 24 Stunden nach Abnahme der Serumprobe mit Hilfe des Plattenlochtestes zur Verfügung stehen, praktisch nicht möglich. Die Schnelltestmethode eröffnet somit neue therapeutische Möglichkeiten.

Die pharmakokinetischen Parameter, die in der vorliegenden Arbeit gewonnen wurden, stimmen weitgehend mit den Daten überein, die zuvor publiziert wurden, vgl. Höffler et al. in Kluthe, medikamentöse Therapie usw. (5). Das Verteilungsvolumen wurde nämlich mit 16,8 % des Körpergewichtes bzw. 16,8 Liter/100 kg Körpergewicht bestimmt. In der zitierten Publikation war der gleiche Wert mit 19,9 % bestimmt worden, so daß sich keine wesentliche, größenordnungsmäßige Differenz ergibt. Auch die Halbwertszeitverlängerung in Abhängigkeit von der Nierenfunktion bewegte sich in den Größen, die in den angegebenen Publikationen beschrieben wurde. Auffällig war, daß die zweite Halbwertszeit, die also nach der dritten Injektion gemessen wurde, zumeist länger war, als die, die bei der ersten Injektion beobachtet wurde. Dies muß zunächst verwundern. Eine ähnliche Beobachtung konnte jedoch beim Carbeni-

cillin gemacht werden (6), wo eine klare Beziehung zwischen Halbwertszeit und Dosis gefunden werden konnte. Offenbar ist bei höheren Konzentrationen die Zahl der ausscheidenden Mechanismen in der Niere überfordert. Dies wiederum spricht dafür, daß der Ausscheidungsmechanismus ein nicht rein passiver ist, wie es die glomeruläre Filtration darstellt, sondern daß vielmehr aktive Ausscheidungsmechanismen wie tubuläre Sekretion oder Metabolisierung eine Rolle spielen. Systematische Untersuchungen zu dieser Frage sind weiteren Arbeiten vorbehalten.

Literaturübersicht

1. FIEGEL, P.
D. HÖFFLER
D. MÜLLER
"Cr-51-EDTA-Clearance ist für die klinische Routine geeignet".
Medical Tribune Nr. 30, (1971), 18
2. HEPDING, L.
H. WAHLIG
"Experimentelle Untersuchungen über ein neues Antibiotikum, Gentamycin".
Arzneimittelforschung, 16. Jahrg.
(1966), Heft 1, 1.
3. HÖFFLER, D.
"Antibakterielle Therapie bei Niereninsuffizienz".
1. Aufl., (1971), Beecham Pharma GmbH Mainz
4. HÖFFLER, D.
"Arzneimitteldosierung bei renaler Ausscheidungsinsuffizienz".
Ärztliche Praxis, XXIII. Jahrg.,
Nr. 82, (1971), 3691
5. HÖFFLER, D.
"Gentamycin bei Niereninsuffizienz".
In: Kluthe, R.; Medikamentöse Therapie bei Nierenerkrankungen, (1971),
Georg Thieme, Stuttg., 82
6. HÖFFLER, D.
P. KOEPPE
P. FIEGEL
D. HÖLZEL
R. RIGELMANN
U. GOESCHEL
W.-R. PALMER
"Zur Pharmakokinetik des Carbenicillins bei hoher Dosierung"
Dtsch.med.Wschr., (1974) 99, 399

7. JACKSON, G.G. "Laboratory and clinical investigation of gentamicin"
1. International symposium on gentamicin, Paris (1967), 62
8. JACKSON, G.G. "Gentamicin"
Practitioner 198, (1967), 855
9. JAO, R.L.
G.G. JACKSON "Clinical experience with gentamicin in gramnegative infections"
Antimicrobial Agents and Chemotherapy, (1963), 148
10. JAO, R.L.
G.G. JACKSON "Gentamicin sulfate, new antibioticum against gram-negative Bacilli"
Amer.J.Med. 189, (1964), 817
11. KLEIN, P. "Aktivitätsbestimmung im Agar-Diffusionstest"
In: KLEIN, P.: Bakteriologische Grundlagen der chemotherapeutischen Laborpraxis, Springer-Verlag, (1957), 86
12. KRECKE, H.J.
H. FRITSCH
E. RITZ
H.G. UHSE "Nierenkrankheiten"
In: SCHETTLER, G.: Innere Medizin I, 3. Auflage, (1972), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 296
13. KUSCHINSKY, G.
H. LÜLLMANN Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie, 4. Aufl., (1970), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 253

14. LUNDQUIST, P.G.
J. WERSÄLL "The ototoxic effect of gentamycin -
an electron microscopical study"
1. International Symposium on
Gentamycin, Paris, (1967), 26
15. NIETH, H. "Doppelseitige Erkrankungen der
Niere"
In: GROSS, R., D. JAHN, P. SCHÖLMERICH:
Lehrbuch der inneren Medizin, 2. Aufl.,
(1970), F.K. Schattauer Verlag,
Stuttgart and New York, 815
16. NOONE, P. et al. "Experience in Monitoring gentamycin
Therapy during Treatment of Serious
gram-negative Sepsis"
Brit. Med. J., 74, 1, 477
17. OBERZILL, W. Mikrobiologische Analytik, Verlag
Hans Carl, Nürnberg, (1967), 323
(Agar-Diffusionsverfahren)
18. PINES, A. "Gentamycin and Cholistin in Chronic
H. RAAFAT Purulent Bronchial Infections"
K. PLUCINSKI Brit. Med. J., 1967/II, 543
19. SPRING, P. "Zur mikrobiologischen Bestimmung
L. DETTLI von Gentamycin an niereninsuffi-
H. REBER zienten Patienten: Vergleich einer
Schnellmethode mit einer Standard-
methode"
13. Internationaler Kongreß für
Pädiatrie, Wien (1971), 93

20. WAHLIG, H. "Eine mikrobiologische Schnell-
W. HAMEISTER methode zur quantitativen Be-
stimmung von Gentamycin"
13. Internationaler Kongreß für
Pädiatrie, Wien, (1971), 81
21. WAHLIG, H. "Antibakterielle Wirksamkeit von
Gentamycin"
Therapie der Gegenwart, (1966), 1904
22. WALTER, A.M. Antibiotika-Fiebel, 3. Aufl., (1969),
L. HEILMEYER Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 423
23. WEINSTEIN, M. "Experimental background and bacte-
riology of Gentamycin"
1. International Symposium on Gentamycin,
Paris, (1967), 9

L e b e n s l a u f

Am 1.6.1940 wurde ich als 1. Kind der Eheleute Johann Reintl und seiner Ehefrau Ernestine, geb. Aechtner in Nassengrub/Asch im Sudetenland (CSSR) geboren. 1945 gelangte ich infolge der Heimatvertreibung nach Bayern, wo ich von 1946-1952 in Dinkelsbühl die Volksschule besuchte. 1952 trat ich in die Oberrealschule mit Gymnasium ein, wo ich im Juli 1961 die Reifeprüfung ablegte.

1961 begann ich an der Universität Erlangen mit dem Studium der evangelischen Theologie, welches ich seit SS 1963 an der kirchlichen Hochschule zu Oberursel/Ts. fortsetzte, hauptsächlich um dort die Altsprachen Latein, Griechisch und Hebräisch nachzuholen. Vom WS 1963/1964 bis 1968 studierte ich an der Theologischen Fakultät der Universität Heidelberg.

Im April 1968 heiratete ich die Lehrerin Marie-luise Reintl, geb. Müller. Aus dieser Ehe ging im Mai 1970 der Sohn Klaus hervor.

Wegen unlösbarer Gewissenskonflikte innerhalb der Theologie begann ich im WS 1968/1969 an der Universität Mainz mit dem Zweitstudium der Medizin. Nach dem 2. Semester legte ich das Vorphysikum, nach dem 5. Semester das Physikum ab. Im Juni 1974 bestand ich das medizinische Staatsexamen mit "sehr gut". Seit 1.8.1974 bin ich Medizinalassistent am Stadtkrankenhaus Rüsselsheim.

Herrn Prof. Dr. D. Höffler, Abtlg. für Nieren- und Hochdruckkranke der Städt. Kliniken Darmstadt, bin ich sehr zu Dank verpflichtet für die Überlassung des Themas, des Laborplatzes an der I. Med. Klinik Mainz sowie seine Anregungen und Hilfen.

Mein Dank gilt ferner für ihre Ratschläge und Bemühungen: Herrn Dr. P. Fiegel von der I. Med. Klinik Mainz, Herrn Prof. Dr. Berger und Frau Dipl.-Math. Dr. D. Müller vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Herrn Dr. H. Wahlig und Herrn Franz von der Medizinischen Forschung der Fa. Merck, Darmstadt.

